



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS  
SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**  
**CENTRO MÉDICO NACIONAL**  
**“20 DE NOVIEMBRE”**

**IDENTIFICACIÓN DE FENOTIPOS LEVES O  
NUEVOS EN PACIENTES CON EPILEPSIA  
GEN-ESPECÍFICO A TRAVÉS DEL ANÁLISIS  
GENOTIPO-FENOTIPO**

**TESIS DE POSGRADO**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA  
PRESENTA:  
ARMANDO GUILLERMO NAVA AGUILAR**

**TUTORA DE TESIS:  
DRA. MARÍA DEL CARMEN CHIMA GALÁN**

**ASESORES METODOLÓGICOS:  
DRA. LILIANA GARCÍA ORTIZ**

**CUIDAD DE MÉXICO A 9 DE FEBRERO 2024**  
**No. de Registro 430.2023**





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.

Tesis: "Identificación de fenotipos leves o nuevos en pacientes con epilepsia gen-específico a través del análisis genotipo-fenotipo"  
RPI: 430.2023

## AUTORIZACIONES



---

**DRA. DENISSE AÑORVE BAILÓN**  
SUBDIRECTORA DE ENSEÑANZA,  
CMN "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



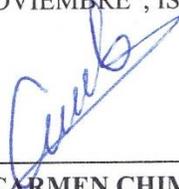
---

**DR. CHRISTIAN GABRIEL TOLEDO LOZANO**  
COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN,  
CMN "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



---

**DR. JOSÉ LUIS ACEVES CHIMAL**  
ENCARGADO DE LA COORDINACIÓN DE ENSEÑANZA  
CMN "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



---

**DRA. MARÍA DEL CARMEN CHIMA GALÁN**  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO Y TUTOR DE TESIS



---

**DR. ARMANDO GUILLERMO NAVA AGUILAR**  
MÉDICO RESIDENTE TESISISTA



GOBIERNO DE  
MÉXICO



NUEVO  
ISSSTE

CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"  
DIRECCIÓN  
SUBDIRECCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
COORDINACIÓN DE ENSEÑANZA

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y NO PLAGIO  
TESIS PARA TITULACION

La vulneración de los derechos de autor es un delito contra la propiedad de intelectual catalogado como plagio, el cual puede tener graves consecuencias, como la anulación de la matrícula y la anulación del título. y, por consiguiente, puede ser sancionada.

La adopción de ideas ajenas vertidas en un texto y presentarlas en uno propio se califica como plagio o robo de propiedad intelectual, el cual puede ser por copiar directamente, por hacer una traducción y no indicarla como tal o tomar una idea ajena sin indicar su bibliografía, lo cual va en contra del código de honor de la ciencia. Bajo protesta de decir verdad los firmantes al calce de este documento deberán lo siguiente:

1. Se realizó revisión de la bibliografía publicada en la literatura nacional e internacional, seleccionando la considerada apropiada para respaldar el conocimiento científico en el que se basa la tesis titulada

Identificación de fenotipos leves o nuevos en pacientes con epilepsia gen-específica a través del análisis genotipo-fenotipo y esta bibliografía fue citada apropiadamente en el texto.

2. Los hallazgos de la investigación fueron contrastados con la información científica publicada, la cual fue debidamente citada en el texto.

3. Para la divulgación de la información científica, nos conduciremos en todo momento protegiendo los derechos de autor, en términos de los artículos 1, 18 y 19 y demás disposiciones aplicables a la ley federal de derechos de autor, así como de su reglamento.

Nombre y firma autógrafa del tutor Dra. María del Carmen Chima Galón

Nombre y firma autógrafa del Médico Residente tesista Armando Guillermo Navea Aguilera

Nombre y firma autógrafa del Jefe de Servicio Dra. María del Carmen Chima Galón

Fecha de entrega de tesis Febrero - 2024

El llenado de este documento deberá ser realizado a mano por las personas que lo firman



## ÍNDICE

RESUMEN .....	5
ABREVIATURAS .....	6
INTRODUCCIÓN .....	7
ANTECEDENTES.....	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
JUSTIFICACIÓN.....	16
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVOS.....	17
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	18
DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO.....	18
POBLACIÓN.....	18
UNIVERSO .....	18
TIEMPO DE ESTUDIO.....	18
TIEMPO DE EJECUCIÓN.....	18
CRITERIOS DE SELECCIÓN .....	18
TIPO DE MUESTREO .....	19
TABLA DE VARIABLES.....	19
TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS .....	21
METODOLOGÍA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	22
ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES.....	22
ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD.....	22
CONFLICTOS DE INTERES.....	22
INVOLUCRADOS Y RESPONSABILIDADES.....	22
RECURSOS FINANCIEROS.....	23
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	23
RESULTADOS .....	24
DISCUSIÓN .....	36
CONCLUSIONES.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40
ANEXOS.....	46

## RESUMEN

La epilepsia es una enfermedad cerebral causada por una actividad neuronal anormal excesiva o sincrónica en el cerebro, caracterizada por la presencia de crisis epilépticas, las cuales son un cambio del comportamiento transitorio que puede ser un signo o un síntoma. En México se estima una prevalencia de 10 a 20 por cada 1,000 personas. Las epilepsias genéticas se definen por una etiología genética subyacente conocida, se estima que un 32% y 26% en niños y adultos presentan epilepsia por esta causa.

El advenimiento de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) ha llevado a un aumento exponencial en el descubrimiento de nuevos genes, así como a la expansión de espectros fenotípicos de epilepsia gen-específico.

En la consulta de Genética médica se evalúan pacientes con diagnóstico de epilepsia gen-específico, sin embargo, no se han identificado fenotipos leves o nuevos en casos de pacientes mediante el análisis del genotipo-fenotipo.

Se realizó una búsqueda de casos clínicos de pacientes con diagnóstico de epilepsia gen-específico a través del expediente clínico electrónico en el periodo de marzo de 2021 a junio de 2023, y acorde a los criterios de inclusión.

Se analizaron 13 casos donde se encontraron 30 variantes genéticas, 8 clasificadas como patogénicas, y 22 variantes fueron clasificadas como de significado incierto, 9 de estas 22 fueron reclasificadas usando los criterios del ACMG, 3 a probablemente patogénicas, 4 a probablemente benignas y 2 a benignas. Se identificaron 5 fenotipos ya conocidos, de los cuales 3 se realizó una modificación del tratamiento o una recomendación, además se identificó un caso con fenotipo leve asociado a variante genética en *ARHGEF9*, previamente no descrito en la literatura.

Se cumplió con el objetivo del estudio donde se identificó un fenotipo leve relacionado a *ARHGEF9*.

Palabras claves: Epilepsia-gen específico, Encefalopatía epiléptica y del desarrollo, SCN1A, STXBP1, GLDC, ARHGEF9, TSC2, SETD1A

## **ABREVIATURAS**

ASM: medicamentos anticonvulsivos

CGH/CMA: hibridación genómica comparativa/microarreglo cromosómico

CNV: variante en el número de copias

DEEs: encefalopatías epilépticas y del desarrollo

EEG: electroencefalograma

ES: secuenciación de exoma

GEFS+: epilepsia generalizada con crisis febriles plus

GWAS: estudios de asociación del genoma completo

ILAE: Liga Internacional contra la Epilepsia

MGP: panel multigenes

NGS: secuenciación de nueva generación

VUS: variante de significado incierto

WES: secuenciación de exoma completo

WGS: secuenciación de genoma completo

## INTRODUCCIÓN

La epilepsia es una enfermedad cerebral causada por una actividad neuronal anormal excesiva o sincrónica en el cerebro, caracterizada por la presencia de crisis epilépticas, las cuales son un cambio del comportamiento transitorio que puede ser un signo o un síntoma, como pérdida de conciencia, rigidez, sacudidas, olor a goma quemada o un *déjà vu*. (Devinsky et al., 2018; Fishers et al., 2014). En México se estima una prevalencia de 10 a 20 por cada 1,000 personas (Santos-Peyret et al., 2022).

La etiología de la epilepsia es múltiple, en 2017 la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) las agrupó en (1) estructurales, (2) genéticas, (3) infecciosas, (4) metabólicas, (5) inmunes y (6) desconocidas (Scheffer et al., 2017). De las cuales, las causas genéticas corresponden a un 32% y 26% en niños y adultos respectivamente (Bosak et al., 2019; Aaberg et al., 2017).

Las epilepsias genéticas se definen por una etiología genética subyacente conocida, incluye aneuploidías cromosómicas, variantes estructurales como rearrreglos cromosómicos y variantes en el número de copias (CNV), además de las relacionadas a genes específicos. En 2022, la clasificación y definición de síndromes de epilepsia realizada por la ILAE, definió por primera vez la epilepsia gen-específico, caracterizadas por fenotipos electroclínicos distintos debido a una variante patogénica en un solo gen (Wirrell, Nabbout et al., 2022).

Los principales fenotipos descritos en epilepsia gen-específico, son las encefalopatías epilépticas y del desarrollo (DEEs), sin embargo, la descripción de fenotipos más leves o nuevos en pacientes con variantes en genes que alguna vez se pensó solo causaban DEEs permite crear modelos predictivos de la evolución, ampliar el conocimiento de los mecanismos causantes de enfermedad y en algunos casos el desarrollo de terapias genéticas específicas.

En la consulta de Genética Médica del Centro Médico Nacional se evalúan pacientes con sospecha de epilepsia de etiología genética y casos confirmados, sin embargo, no se ha realizado una correlación del genotipo-fenotipo en paciente con epilepsia gen-específico, el análisis de los casos confirmados apoyará la descripción de los mecanismos causantes de enfermedad, lo que permitirá proponer una posible terapia de precisión.

## ANTECEDENTES

La Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) define la epilepsia por cualquiera de las situaciones siguientes: (1) aparición de al menos dos crisis no provocadas (o reflejas) con una separación >24 horas; (2) aparición de una crisis no provocada (o refleja) y probabilidad de que aparezcan más crisis durante los 10 años siguientes similar al riesgo de recurrencia general (al menos 60%) después de dos crisis no provocadas; (3) diagnóstico de un síndrome epiléptico (Fishers et al., 2014).

A nivel mundial su incidencia anual es de 50.4 a 81.7 por cada 100,000 personas y su prevalencia es de 6.4 casos por cada 1,000 personas, afectando alrededor de 65 millones de personas (Devinsky et al., 2018; Falco, 2020).

En 2017 la ILAE implementó una clasificación operacional de tipos de crisis basada en tres niveles:

PRIMER NIVEL: consiste en definir los tipos de crisis por su inicio en focal, generalizado o desconocido.

SEGUNDO NIVEL: consiste en el diagnóstico del tipo de epilepsia, que comprende cuatro clases principales: epilepsia focal, epilepsia generalizada, epilepsia combinada focal y generalizada, y epilepsia desconocida.

TERCER NIVEL: se refiere a la delimitación del síndrome epiléptico, este se refiere a un grupo característico de hallazgos clínicos, electroencefalográficos y de imagen (Scheffer et al., 2017; Falco, 2020; Wirrell, Tinuper et al., 2022).

Los síndromes epilépticos tienen a menudo presentaciones dependientes de la edad y una variedad de comorbilidades específicas, para abordarlos se dividen en 4 grupos

- (1) inicio neonatal e infantil,
- (2) inicio en la niñez,
- (3) edad de inicio variable, y
- (4) epilepsias generalizadas idiopáticas.

Todos estos grupos a su vez se subdividen en generalizados, focales y generalizados-focales, según el tipo o tipos de crisis, con una categoría separada para los síndromes con encefalopatía epiléptica y del desarrollo (DEEs) o deterioro neurológico progresivo (Wirrell, Nabbout et al., 2022; Scheffer et al., 2017).

El término DEEs se usa para denotar una epilepsia asociada con un deterioro del desarrollo que puede deberse tanto a la etiología subyacente (encefalopatía del desarrollo) como a la actividad epiléptica superpuesta (encefalopatía epiléptica) (Wirrell, Tinuper et al., 2022).

En la clasificación y definición de síndrome epiléptico realizada por la ILAE en 2022 se incluyeron síndromes de etiología específica, asociados con un fenotipo clínico concreto, relativamente uniforme y claro en la mayoría de los individuos afectados (presentación clínica, tipos de crisis, comorbilidades, curso de la enfermedad y/o respuesta a terapias específicas), así como hallazgos consistentes en electroencefalogramas (EEG), estudios de neuroimagen y/o correlación genética (Wirrell, Nabbout et al., 2022).

Las epilepsias genéticas se definen por una etiología genética subyacente conocida. (Krey et al., 2022), la cual puede incluir desde aneuploidías cromosómicas y variantes estructurales como rearrreglos cromosómicos y variantes en el número de copias (CNV) (Singh et al., 2002; Steinlein, 2008), sin embargo, a partir del descubrimiento del primer gen identificado como causa de epilepsia en 1995 (Steinlein et al., 1995), el campo de las epilepsias ha pasado por una etapa inicial de laborioso descubrimiento de genes mediante análisis de ligamiento (Phillips et al., 1995), seguida de un período decepcionante centrado en los estudios de asociación del genoma completo (GWAS), y luego una era de secuenciación masiva en paralelo, basada en las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS), lo que ha desencadenado un crecimiento exponencial en el descubrimiento de genes y en el conocimiento de los complejos y diversos mecanismos neurobiológicos de la epilepsia (Ellis et al., 2020).

Históricamente, la comprensión de la contribución genética a los trastornos convulsivos se deriva de estudios epidemiológicos y genéticos. Un ejemplo son los estudios sistemáticos en gemelos, realizados por William G. Lennox en las décadas de 1940 y 1950, que proporcionaron pruebas sólidas de una contribución predominantemente genética para la epilepsia de ausencia infantil y las epilepsias generalizadas relacionadas (Helbig et al., 2016). Y fue has 1995 donde se identificó el primer gen (*CHRNA4*), como causa de epilepsia; el cual codifica para la subunidad

alfa-4 del receptor nicotínico de acetilcolina, y está asociado a epilepsia del lóbulo frontal nocturna autosómica dominante. La localización del locus se realizó mediante análisis de ligamiento en una familia de 6 generaciones con 27 individuos afectados, con la posterior secuenciación e identificación de la variante de un solo nucleótido (Phillips et al., 1995; Steinlein et al., 1995)

Este descubrimiento marcó el inicio de distintas eras en el estudio de las epilepsias:

(I) Canalopatías, la era pionera del descubrimiento de genes en los síndromes epilépticos familiares monogénicos.

(II) Una era oscura, un período relativamente inactivo caracterizado por estudios de genes candidatos en gran parte negativos.

(III) La era de NGS, con descubrimiento masivo de genes, donde actualmente existen 1,420 entradas de epilepsia en la base de datos Online Mendelian Inheritance in Man.

(IV) Una era post-genómica, donde no solo se busca el descubrimiento de nuevos genes relacionados, sino expandir el espectro fenotípico, establecer una correlación genotipo-fenotipo y ampliar el entendimiento de la patobiología subyacente de la condición genética, con el fin de llegar a una terapia de precisión (Helbig et al., 2016; Ruggiero et al., 2023; Ellis et al., 2020).

### **Uso de las tecnologías de secuenciación de nueva generación en el diagnóstico genético de las epilepsias**

El advenimiento de las tecnologías de NGS ha llevado a un aumento exponencial en el descubrimiento de nuevas etiologías genéticas, así como a la expansión de espectros fenotípicos de epilepsia gen-específico. El repertorio de pruebas se ha ampliado desde la hibridación genómica comparativa/microarreglo cromosómico (CGH/CMA) y las pruebas de un solo gen hasta los paneles multigénicos (MGP), la secuenciación del exoma completo (WES) y la secuenciación del genoma completo (WGS). Cada modalidad tiene ventajas y limitaciones específicas que requieren consideración al abordar pacientes con epilepsia (Smith et al., 2023).

En una revisión sistemática realizada en 2021, el rendimiento diagnóstico general en todas las modalidades de prueba fue del 17 %, con el mayor rendimiento para WGS (48 %), seguido de WES (24 %), MGP (19 %) y CGH/CMA (9 %). Los únicos factores fenotípicos que se asociaron significativamente con un mayor rendimiento fueron (1) la presencia de DEEs y/o (2) la presencia

de comorbilidades del neurodesarrollo (por ejemplo, trastorno del espectro autista o discapacidad intelectual) (Sheidley et al., 2022).

Un diagnóstico en la epilepsia gen-específico es importante para los pacientes y sus familias, ya que tiene una utilidad tanto clínica como personal. Esto es particularmente cierto para las DEEs en las que también se ha demostrado que las pruebas genéticas tempranas son rentables y terminan con la búsqueda invasiva de una causa. Identificar el gen causante puede dirigir la elección de ASM en hasta el 76 % de los niños con epilepsia. Incluso en adultos, los cambios de tratamiento debido a un diagnóstico genético después de años de resistencia a medicamentos han llevado a disminuir las crisis, mejorar la cognición y la calidad de vida. Además, las terapias de precisión están disponibles para algunas epilepsias genéticas (Ritter & Holland, 2020; Krey et al., 2022).

En varios estudios se ha demostrado la utilidad del diagnóstico genético, Demos et al. (2019) enlistaron 180 pacientes con epilepsia, todos tuvieron un inicio de crisis a una edad  $\leq 5$  años de causa indefinida después de la evaluación clínica, EEG, resonancia magnética cerebral y realización de CGH/CMA. Posteriormente se les realizó WES, con lo que se estableció un diagnóstico molecular en 59/180 pacientes (33%). Se identificaron variantes patogénicas/probablemente patogénicas en 41 genes y la mayoría de los pacientes diagnosticados (41/59) tenían un trastorno autosómico dominante. Además, identificaron una variante de significado incierto (VUS) que posiblemente explica los síntomas clínicos del paciente índice en 21 casos (12%). Por último, diagnosticaron un trastorno genético con implicaciones terapéuticas específicas en 27 pacientes y se influyó y/o modificó el manejo en 23.

En el estudio realizado por Peng et al. (2019), donde se incluyeron 273 pacientes pediátricos con epilepsia resistente a tratamiento sin una etiología adquirida evidente, de los cuales 74 pacientes se sometieron a secuenciación del exoma completo (WES), 141 pacientes se sometieron a MGP relacionados con epilepsia y otros 58 pacientes se sometieron a ES clínico. El diagnóstico genético se logró en 86 pacientes (31,5%) e involucró 93 variantes probablemente causantes de enfermedades en 33 genes. Además, 34 pacientes recibieron terapia de precisión de acuerdo con sus genes afectados, después de lo cual el 52,9 % (18/34) quedó libre de crisis y el 38,2 % (13/34) logró una reducción de estas.

## Terapias de precisión en los síndromes de epilepsia gen-específicos

En el pasado, el manejo de la epilepsia era simple: se tenía pocos medicamentos, cirugía de epilepsia rudimentaria y poca comprensión de la etiología de la epilepsia. Un tercio de los casos de epilepsia eran refractarios al tratamiento, y muchos pacientes experimentaron efectos adversos problemáticos, agudos y crónicos de la terapia (Byrne et al., 2021).

Las últimas dos décadas, y en particular los últimos 5 años, han visto avances increíbles en el diagnóstico genético, especialmente en el campo de las DEEs. Se han descrito cientos de genes relacionados con la epilepsia, con muchos genes nuevos que probablemente aún no se hayan descubierto, y con cada gen descubierto se agrega una nueva e interesante información a la base molecular de las epilepsias. Muchos de estos genes convergen en vías homeostáticas similares que eventualmente han resultado en objetivos para un tratamiento exitoso, a partir de una terapia de precisión (Byrne et al., 2021).

Dentro de las terapias de precisión las dietas y suplementación con vitaminas se han convertido en una modalidad terapéutica bien establecida para los síndromes convulsivos graves. En el síndrome de deficiencia de *GLUT1* y en los trastornos relacionados con *PIGA*, los cuales presentan epilepsia como principal característica clínica, se ha logrado un control adecuado de las crisis con dieta cetogénica. En la epilepsia dependiente de piridoxina, ocasionada por variantes bialélicas en el gen *ALDH7A1*, la suplementación con piridoxina (vitamina B6), tiene un gran impacto en el control de las crisis y a partir de este hallazgo, otras epilepsias que comparten alteraciones en la vía metabólica como la epilepsia piridoxal 5'-fosfato-dependiente, ocasionada por variantes bialélicas en el gen *PNPO*, y la epilepsia por deficiencia de proteína de unión de fosfato de piridoxal, ocasionada por variantes bialélicas en el gen *PLPBP*, han visto una reducción o cese en las crisis a partir de la suplementación con vitamina B6 (Zimmern et al., 2022).

En el caso de síndrome de Dravet ocasionado por variantes en *SCN1A*, parte de la terapia de precisión es evitar el uso de bloqueadores de canales de sodio (por ejemplo, carbamecepinga, lamotrigina), así como agentes que potencian la neurotransmisión GABAérgica como clobazam. Aparte se ha encontrado que la fenfluramina, cannabidiol y estiripentol proporcionan un beneficio clínico para pacientes con este síndrome corroborado en ensayos clínicos aleatorizados (Zimmern et al., 2022; Chiron, 2019; Specchio et al., 2020; Devinsky et al., 2017).

En la epilepsia relacionada a protocadherina 19, en la cual ocurren alteraciones en la esteroidogénesis y cambios en la expresión génica relacionados con hormonas nucleares, el uso de ganaxolona, un análogo de alopregnanolona, ha demostrado una reducción considerable de las crisis comparado con placebo en un estudio doble ciego, actualmente en fase 2 (Zimmern et al., 2022; Sullivan et al., 2023).

En el caso de la epilepsia hipermotora asociada al sueño autosómica dominante relacionada con *CHRNA4*, en donde el uso de nicotina transdérmica informó una notable reducción de las crisis poco después del inicio del tratamiento, mejorando además dominios cognitivos (capacidad visuoespacial, velocidad de procesamiento, memoria y algunas funciones ejecutivas) (Zimmern et al., 2022; Lossius et al., 2020).

Actualmente se están investigando nuevas terapias de precisión, aunado al mayor entendimiento de los mecanismos patológicos, como es el caso de la epilepsia del lóbulo temporal, ocasionada por variantes patogénicas en *LGII* y la encefalopatía con epilepsia relacionada con *STXBPI*, en las cuales la terapia con chaperonas químicas como 4-fenilbutirato, sorbitol y trehalosa ha resultado en una estabilización y restauración de las funciones de la proteína en modelos animales (Zimmern et al., 2022; Zhao et al., 2007; Guiberson et al., 2018).

Por último, las áreas de investigación prometedora en curso incluyen estudios en terapias génicas (edición génica, suplementación génica y modificaciones en la expresión génica) (Zimmern et al., 2022).

### **Del genotipo al fenotipo en síndromes de epilepsia gen-específicos**

En el campo de la genética de la epilepsia, las explicaciones gen-específico se describen primero en las formas severas como las DEEs, ya que dada la complejidad del cuadro clínico son las más estudiadas, posteriormente fenotipos leves o nuevos se van atribuyendo a los mismos genes causantes de las formas severas, tal es el caso encefalopatía con epilepsia relacionada con *STXBPI* y la DEE relacionada con *KCNQ2* los cuales se identificaron por primera vez como causas del síndrome de Ohtahara en recién nacidos que experimentaron crisis intratables a lo largo de su vida; ahora se sabe que estas condiciones causan presentaciones mucho más variables de epilepsia y fenotipos de desarrollo, incluidos espasmos infantiles sin crisis neonatales previas y, a veces, trastornos del desarrollo neurológico sin crisis epilépticas. A medida que se analizan más individuos a través de estudios genéticos, se identifican cada vez más explicaciones para los

individuos con presentaciones más leves de epilepsia. Variantes en genes que alguna vez se pensó que causaban DEEs en todos los casos se están encontrando en individuos con epilepsias autolimitadas y con afectación más leves en su aprendizaje y desarrollo, como ahora se ha informado raramente en *STXBPI* (Ruggiero et al., 2023).

En epilepsias que primero se caracterizaron por mecanismos de dominancia negativa o de pérdida de función se han identificado variantes nuevas que ocasionan mecanismos ganancia de función, lo que da como resultado presentaciones y fenotipos nuevos, como en el caso de *SCN1A*, *SCN2A* y *SCN8A* (Ruggiero et al., 2023; Meisler, et al., 2021).

La identificación de una variante patogénica suele ser muy útil para los médicos, pero en algunos casos, el amplio espectro fenotípico asociado con una variante genética genera incertidumbre sobre la evolución clínica del síndrome epiléptico genético asociado. Por ejemplo, las mutaciones patogénicas en *SCN1A* son la causa más común de epilepsia genética y dan lugar a un amplio espectro fenotípico de epilepsia, que va desde el síndrome de Dravet (epilepsia resistente a fármacos y discapacidad intelectual) hasta la susceptibilidad a las crisis febriles, como en la epilepsia generalizada con crisis febriles plus (GEFS+). Un modelo predictivo basado en la variante *SCN1A* ayudaría a los médicos a anticipar la evolución de la enfermedad. Un estudio de cohorte multicéntrico retrospectivo de 1018 pacientes con síndrome de Dravet o GEFS+ con variante patogénica en *SCN1A* evaluó la utilidad de la edad de inicio de las crisis junto al desarrollo de una puntuación genética de *SCN1A* combinando la conservación paráloga de la posición del aminoácido mutado con las propiedades fisicoquímicas (puntuación de Grantham), dando un rango entre 0-270, esto con el fin de predecir la evolución clínica. Una puntuación genética *SCN1A* alta y una edad temprana al inicio se asociaron de forma independiente con síndrome de Dravet en comparación a GEFS+. Este enfoque de predicción es innovador y uno esperaría que se convierta en un enfoque estándar para todos los genes asociados con un amplio espectro fenotípico (Zimmern & Korff, 2022).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente el uso de NGS ha permitido un avance significativo en el entendimiento de la epilepsia, con descubrimientos cada vez mayores de genes relacionados, y de las vías moleculares implicadas, gracias a esto se ha descrito el mecanismo patogénico de trastornos ya conocidos como la epilepsia del lóbulo temporal, ocasionada por variantes patogénicas en *LGII* y la encefalopatía con epilepsia relacionada a *STXBPI*, permitiendo el inicio de investigaciones en chaperonas químicas como terapia de precisión, por mencionar algunos ejemplos.

Debido al uso diagnóstico de la NGS, pacientes sin diagnóstico etiológico o con epilepsia resistente a tratamiento han encontrado respuestas a su padecimiento, y un porcentaje ha recibido tratamiento dirigido a su diagnóstico genético. Estudios clínicos aleatorizados se llevan a cabo por el aumento en el número de pacientes con diagnóstico genético, tal es el caso del estudio doble ciego de epilepsia relacionada a protocadherina 19, en donde se está comparando la ganaxolona contra placebo.

En la consulta de Genética médica no se ha realizado un análisis del genotipo-fenotipo en casos con epilepsia gen-específico.

Teniendo en cuenta lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Se identificarán fenotipos leves o nuevos relacionados a genes ya conocidos de epilepsia gen-específico en los casos de la consulta de Genética médica del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”?

## **JUSTIFICACIÓN**

Esta investigación dará a conocer la correlación genotipo-fenotipo en pacientes con epilepsia gen-específico de la consulta de Genética del CMN “20 de Noviembre”.

Este análisis, incluye un reanálisis de las variantes encontradas en el estudio molecular, lo que, para las variantes de significado incierto, permitirá en algunos casos su reclasificación, lo que tiene implicaciones en el asesoramiento genético.

El conocer la correlación del genotipo-fenotipo ampliará el espectro clínico de las epilepsias, apoyará la descripción de los mecanismos causantes de enfermedad implicados y de los nuevos fenotipos, lo que permitirá proponer una posible terapia de precisión.

## **HIPÓTESIS**

Existen fenotipos leves o nuevos relacionados a genes ya conocidos de epilepsia gen-específico en los casos de la consulta de Genética médica del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”

## **OBJETIVOS**

**Objetivo general:** Identificar fenotipos leves o nuevos en casos de pacientes con diagnóstico de epilepsia gen-específico, mediante el análisis del genotipo-fenotipo.

### **Objetivos específicos:**

1. Describir las características clínicas de los pacientes con epilepsia gen-específico.
2. Describir las variantes encontradas en los pacientes seleccionados.
3. Correlacionar las variantes genéticas con las características clínicas de los casos estudiados.
4. Comparar los hallazgos con lo descrito en la literatura.
5. Describir si el fenotipo se reclasifica como leve o nuevo.
6. Identificar si algún paciente es candidato a terapia de precisión.

## **METODOLOGÍA**

### **Diseño y tipo de estudio**

Estudio observacional, transversal, retrolectivo, series de casos.

### **Población**

Casos de pacientes con diagnóstico de epilepsia gen-específico acorde a la ILAE que cuenten con estudio molecular en el periodo que abarca de 1 de marzo de 2021 a 31 de julio de 2023.

### **Universo**

Pacientes de la Consulta de Genética del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” en el periodo que abarca 1 de marzo de 2021 a 31 de julio de 2023.

### **Tiempo de estudio**

1 de agosto de 2023 a 31 de diciembre 2023.

### **Tiempo de ejecución**

1 agosto de 2023 a 31 de enero 2024.

### **Criterios de selección**

### **Criterios de inclusión**

Casos clínicos de la consulta de Genética médica con:

- Diagnóstico de epilepsia gen-específico
- Estudio de imagen cerebral: tomografía y/o resonancia magnética
- Electroencefalograma
- Estudio molecular WES o MGP

De cualquier edad o sexo

Valorados entre 1 de marzo de 2021 a 31 de julio de 2023

### **Criterios de exclusión**

Caso que presente alguna aneuploidía cromosómica o alteraciones epigenéticas.

Casos que cuenten con diagnóstico de epilepsia gen-específico que no cuenten con estudios de gabinete completo.

### **Criterios de eliminación**

Casos que cuenten con el diagnóstico de epilepsia gen-específico y estudios de gabinete y moleculares anteriores a la fecha de 1 de marzo 2021.

### **Tipo de muestreo**

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

Metodología para el cálculo del tamaño de la muestra y tamaño de la muestra: Se seleccionaron todos los casos que cumplían con los criterios de selección.

### **Tabla de variables**

<b>Nombre variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Unidad de medida</b>
<b>Estudio molecular</b>	Secuenciación de nueva generación	Se recabará del expediente clínico	Cualitativa dicotómica	Positivo/negativo
<b>Variante genética</b>	Resultado del proceso de mutación	Se recabará del estudio molecular	Cualitativa ordinal	Benigna, probablemente benigna, de significado incierto, probablemente patogénica, patogénica
<b>Electroencefalograma</b>	Estudio de la actividad eléctrica cerebral	Se recabará del expediente clínico	Cualitativa nominal	Descripción del estudio

<b>Resonancia magnética de cerebro</b>	Estudio de imagen	Se recabará del expediente clínico	Cualitativa nominal	Descripción del estudio
<b>Sexo</b>	Características biológicas y fisiológicas que definen a hombres y mujeres	Se recabará de la historia clínica	Cualitativa dicotómica	Masculino, femenino
<b>Edad de diagnóstico</b>	Tiempo de vida de la persona al momento del diagnóstico	Se recabará de la historia clínica	Cuantitativa continúa	Número en meses
<b>Cuadro clínico</b>	Signos y síntomas presentados por un paciente.	Se recabará del expediente clínico	Cualitativa nominal	Descripción del cuadro clínico
<b>Tratamiento</b>	Manejo médico empleado para disminuir los signos y síntomas del paciente	Se recabará del expediente clínico	Cualitativa nominal	Descripción del tratamiento
<b>Comorbilidades</b>	Dos o más trastornos o enfermedades que ocurren en	Se recabará de la historia clínica	Cualitativa nominal	Descripción de otros trastorno o enfermedades presentes en el caso

	la misma persona.			
<b>Desarrollo psicomotor</b>	Adquisición de habilidades que se observa en el niño de forma continua durante toda la infancia.	Se recabará de la historia clínica	Cualitativa dicotómica	Normal/Retraso

### **Técnicas y procedimientos**

Se realizó una búsqueda de casos clínicos de pacientes con diagnóstico de epilepsia gen- específico a través del expediente clínico electrónico del Sistema Integral de Administración Hospitalaria, correspondiente a la consulta de Genética médica del CMN “20 de Noviembre”, en el periodo de marzo de 2021 a junio de 2023, una vez localizados, se eligieron aquellos quienes cuentan con estudio molecular (MPG o WES), se obtuvo información de su historia clínica (edad, sexo, antecedentes heredofamiliares, antecedentes pre y perinatales, en aquellos pacientes que su grupo etario lo requiera, antecedentes patológicos y padecimiento), además de los resultados de los estudios complementarios (resonancia magnética y electroencefalograma).

Para el análisis del estudio molecular se utilizó Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, quienes en 2015 realizaron una clasificación de las variantes en benignas, probablemente benignas, de significado incierto, probablemente patogénicas y patogénicas. Se tomó como estudio molecular positivo aquel con reporte de variantes probablemente patogénicas y/o patogénicas, y estudio molecular negativo aquel en donde no se encuentren variantes o se reporten variantes benignas, probablemente benignas o de significado incierto.

En el caso de las variantes de significado incierto se realizó una búsqueda en base de datos, entre las cuales se encuentran Clinvar, Franklin y Varsome, además se utilizaron predictores in silico de la función de la proteína (Mutation taster, Polyphen, SIFT) y puntuaciones de

patogenicidad como CADD, para su análisis y posible reclasificación. En los casos donde se reclasificó alguna de las variantes se contactó con el paciente para brindar el asesoramiento genético.

Se buscó en la literatura el diagnóstico genético que corresponda al cuadro electroclínico, si este corresponde con lo ya descrito en la literatura o si se trata de un fenotipo leve o nuevo, además se buscó si tiene o no terapia de precisión y en los casos donde se encontró se realizó una recomendación.

Por último, se realizó el procesamiento y análisis estadístico.

### **Metodología de análisis estadístico.**

La evaluación estadística se llevó a cabo de manera descriptiva con medidas de tendencia central. De igual manera, para las variables cualitativas se determinaron razones y proporciones las cuales se presentaron mediante tablas de frecuencia y gráficos que se realizaron mediante Excel.

### **Aspectos éticos y legales**

Estudio “sin riesgo” acorde al artículo 17 del REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE INVESTIGACIÓN PARA LA SALUD.

### **Aspectos de bioseguridad**

Acorde a la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, esta investigación no implicará riesgo biológico.

### **Conflictos de interés**

Ninguno.

### **Involucrados y responsabilidades**

La Dra. María del Carmen Chima Galán, como responsable, revisó de manera conjunta con el médico residente Armando Guillermo Nava Aguilar – investigador asociado 1, los resultados moleculares y la correlación genotipo-fenotipo. Además, participó en la revisión de la redacción de los trabajos escritos derivados del proyecto.

Residente de 3er año de la Especialidad de Genética Médica, el cual estuvo a cargo de la organización del trabajo, la recolección de datos clínicos y moleculares, los avances de resultados, redacción de trabajo escrito y presentación de resultados.

También se contó con el apoyo y participación de la Dra. Liliana García Ortiz, quien forma parte de la División de Medicina Genómica y Genética clínica, quien apoyó en el análisis puntual de los resultados, así como en la redacción de los trabajos de difusión de estos.

### **Recursos y financiamiento**

Mobiliario del consultorio de Genética médica.

Instalaciones de cómputo del hospital con acceso al Sistema Integral de Administración Hospitalaria.

Recursos financieros ninguno.

### **Cronograma de actividades**

<b>Actividad</b>	<b>Responsable</b>	<b>Periodo de tiempo</b>
Evaluación de protocolo de investigación a Comité	Dra. María del Carmen Chima Galán R3. Armando Guillermo Nava Aguilar	1 de junio a 31 de julio de 2023
Recolección de datos y creación de Base de Datos	R3. Armando Guillermo Nava Aguilar	1 agosto a 30 de septiembre de 2023
Análisis de datos	Dra. María del Carmen Chima Galán Dra. Liliana García Ortiz R3. Armando Guillermo Nava Aguilar	1 octubre a 30 de noviembre de 2023
Redacción de Tesis	R3. Armando Guillermo Nava Aguilar	1 de diciembre de 2023 a 15 de enero de 2024
Presentación de resultados y conclusiones	Dra. María del Carmen Chima Galán Dra. Liliana García Ortiz R3. Armando Guillermo Nava Aguilar	16 enero a 7 de febrero 2024

## RESULTADOS

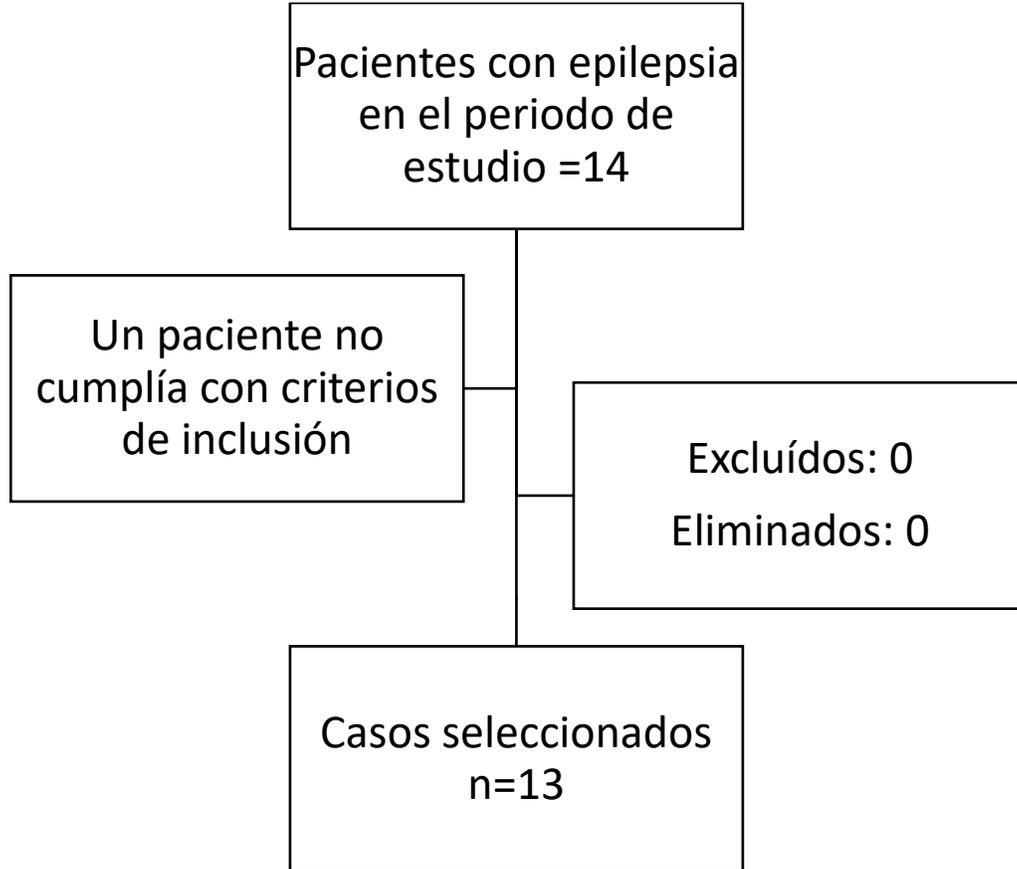


Figura 1. Diagrama CONSORT

Se incluyeron 13 casos de pacientes de la consulta externa de Genética Médica del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” que cumplieron con los criterios de inclusión, de los cuales el 69.23% (9/13) eran de sexo femenino y el 30.77% de sexo masculino (4/13). La media de edad fue de 9.46 años (+/- 5.34 años), mediana de 8 años, moda de 13 años, mientras que la media al momento del diagnóstico de epilepsia fue de 20.18 meses (+/- 19.57 meses), y mediana y moda de 24 meses, con un rango de 3 días a 5 años. El lugar de origen de los pacientes fue principalmente fue la Ciudad de México con 53.84 % (7/13), el resto repartiéndose en el Estado de México, Guerrero, Puebla, Baja California Sur, Chiapas y Carson City. No se encontró endogamia en ningún paciente.

En cuanto a los antecedentes heredofamiliares, ninguno de los pacientes refirió consanguinidad, el 46.15 % (6/13) tampoco refirió antecedentes heredofamiliares de patologías genéticas ni neurológicas, 7.69% (1/13) presentó un familiar de primer grado con epilepsia, el 7.69% (1/13) tuvo familiares de tercer grado con epilepsia, mientras que el 38.47% (5/13)

presentaron antecedentes patológicos no relacionados con epilepsia, discapacidad intelectual, ataxia o alteraciones del comportamiento.

Dentro de los antecedentes pre y perinatales el 46.15% (6/13) no presentaron complicaciones durante el embarazo ni durante la resolución de este, 23.07% (3/13) tuvieron el antecedente de al menos un aborto previo, el 23.07% (3/13) presentó al menos una amenaza de aborto durante el embarazo, 15.38% (2/13) presentó oligohidramnios, 15.38% (2/13) presentó dos o más complicaciones durante el embarazo o la resolución de este, entre las que se encontraron preeclampsia, sufrimiento fetal, hipoxia neonatal y macrosomía.

En los antecedentes patológicos el 76.92% (10/13) de los pacientes presentaron alguna comorbilidad relacionada con el neurodesarrollo, como discapacidad intelectual/retraso en el desarrollo (dependiendo de la edad del paciente), trastorno del espectro autista y trastorno por déficit de atención e hiperactividad; las demás comorbilidades que presentan los pacientes fueron, disautonomía, microcefalia, inmunodeficiencia selectiva de IgG3, debilidad muscular y obesidad.

Con respecto al antecedente del desarrollo psicomotor, el 84.62% (11/13) presentó o presenta retraso en el desarrollo, mientras que el restante 15.38% (2/13) no presentó (Tabla 1).

Tabla 1. Comorbilidades y desarrollo psicomotor

Identificador de paciente	Comorbilidades	Desarrollo psicomotor
E1	Retraso en el desarrollo, ataxia-temblor	Retraso en el desarrollo
E2	Discapacidad intelectual	Retraso en el desarrollo
E3	Retraso en el desarrollo	Retraso en el desarrollo
E4	Discapacidad intelectual	Retraso en el desarrollo
E5	Disautonomía, trastorno de déficit de atención e hiperactividad	Retraso en el desarrollo
E6	Ataxia	Adecuado
E7	Discapacidad intelectual	Retraso en el desarrollo
E8	Trastorno de déficit de atención e hiperactividad	Retraso en el desarrollo
E9	Discapacidad intelectual	Retraso en el desarrollo

E10	Debilidad muscular, obesidad	Adecuado
E11	Retraso en el desarrollo, microcefalia	Retraso en el desarrollo
E12	Trastorno del espectro autista	Retraso en el desarrollo
E13	Inmunodeficiencia selectiva de IgG3	Retraso en el desarrollo

En el caso de los estudios complementarios el 69.23% (9/13) presentó alguna alteración en la resonancia magnética de cerebro y/o tomografía cráneo, las cuales se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Hallazgos en estudios de imagen de cerebro

<b>Identificador de paciente</b>	<b>Reporte de resonancia magnética de cerebro y/o tomografía de cráneo</b>
E1	Estudio en parámetros normales.
E2	Sin hallazgos concluyentes que expliquen etiología estructural.
E3	Aumento del espacio subaracnoideo en forma generalizada con datos de atrofia cortico-subcortical generalizada, con aumento del tamaño de los ventrículos en forma generalizada y simétrica con datos de hidrocefalia ex vacuo. Retraso en el patrón de mielinización para la edad.
E4	Sin presencia de alteraciones estructurales.
E5	Cambios de atrofia hipocampal derecha con ligero menor volumen del cuerpo amigdalino, corteza hipocampal, pilar posterior derecho del fórnix y cuerpo mamilar hipotalámico de ese lado.
E6	Pequeño quiste subaracnoideo infratentorial izquierdo sin otros agregados, restos sin alteraciones.
E7	Disminución de volumen cortico subcortical generalizados. Hallazgos compatibles por imagen y espectroscopia con esclerosis mesial temporal bilateral.
E8	Hallazgos por imagen y espectroscopia compatibles con esclerosis mesial temporal bilateral.

E9	Imágenes de características quísticas periventriculares izquierdas.
E10	Disminución de volumen cortico-subcortical frontotemporal bilateral. Hallazgos compatibles por imagen y espectroscopia con esclerosis mesial temporal bilateral de predominio izquierdo.
E11	Disminución de volumen cortico-subcortical de predominio frontotemporal bilateral.
E12	Leucomalacia periventricular frontal bilateral y ventricular supratentorial. Hallazgos compatibles por imagen y espectroscopia con esclerosis mesial temporal bilateral.
E13	Estudio en parámetros normales.

La descripción del EEG y de las características de las crisis epilépticas se describen en la tabla 3.

Tabla 3. Cuadro electroclínico

<b>Identificador del paciente</b>	<b>Tipo de crisis epiléptica</b>	<b>Cuadro clínico</b>	<b>EEG</b>
E1	Espasmos epilépticos	Encefalopatía epiléptica con ataxia-temblor	Ondas lentas de alto voltaje con frecuencia delta de 2 a 3 Hz, característico de un ritmo de fondo encefalopático, además de grafoelementos de punta onda lenta, ondas agudas y ondas lentas en regiones frontocentrales bilaterales de predominio izquierdo
E2	Ausencia y tónico-clónicas generalizadas	Encefalopatía epiléptica	Enlentecimiento para regiones anteriores y actividad lenta epileptiforme de ondas lentas para región frontal bilateral

E3	Ausencia y tónicas	Encefalopatía epiléptica	En la primera semana de vida con un patrón de brote-supresión, a los 9 meses de vida con hipsarritmia, y a los 3 años con brotes de onda delta de hasta 210 $\mu$ V en hemisferio izquierdo, que conduce a lado derecho, actividad punta, onda aguda, punta onda lenta en región central C3, F3, T3, sugerente de daño cortico-subcortical
E4	Tónico-clónicas generalizadas	Discapacidad intelectual leve y dismorfias faciales menores	Actividad epileptiforme aislada fronto-temporal izquierda
E5	Tónico-clónicas generalizadas	Disautonomía, trastorno por déficit de atención e hiperactividad	Registro de actividad electroencefalográfica rítmica y sincrónica con predominio de ritmo alfa de baja amplitud.
E6	Tónico-clónicas generalizadas	Ataxia	Brotes de onda lenta generalizado de 3.0-3.5 Hz facilitados por hiperventilación y estímulo fótico. Sin actividad a apertura/cierre ocular. No integra gradiente anteroposterior ni ritmo dominante posterior, actividad de fondo lenta para la edad.
E7	Tónico-clónicas generalizadas	Discapacidad intelectual, espasticidad y alteraciones de la marcha	Complejos de onda aguda-onda lenta y punta-onda lenta de predominio en regiones frontocentrales
E8	Focales y múltiples mioclonías segmentarias y generalizadas.	Trastorno por déficit de atención e hiperactividad	Múltiples paroxismos de ondas agudas que en su mayoría generalizadas y que en algunas ocasiones predominan en regiones frontales izquierdas
E9	Tónico-clónicas generalizadas	Discapacidad intelectual severa	Actividad epileptiforme

E10	Crisis focales-generalizadas	Debilidad muscular	Actividad irritativa frecuente de tipo ondas agudas y ondas lentas en región frontoparietotemporal izquierda con propagación volumétrica de manera ocasional.
E11	Crisis de ausencia	Retraso del desarrollo psicomotor	Incremento en la excitabilidad cortico-subcortical generalizado con potencial epileptógeno
E12	Tónico-clónicas generalizadas	Trastorno del espectro autista	Actividad epileptiforme
E13	Tónico-clónicas generalizadas	Inmunodeficiencia selectiva de IgG3	Actividad irritativa generalizada formada por ondas agudas y puntas de bajo voltaje, sobre ritmo de base en sueño normal, lo cual habla de una alteración cortical difusa con elementos paroxísticos generalizados.

Del tratamiento empleado en los pacientes al momento de la valoración genética el 53.85% (7/13) tenía un manejo con un ASM, el 38.46 % (5/13) requerían 3 o más ASM, y el restante 7.69% (1/13) eran manejados con dos ASM.

#### Análisis molecular

Al 84.62% (11/13) de los pacientes se le realizó MGP, mientras que el restante 15.38% (2/13) se le realizó WES, resultando 38.47% (5/13) positivos al momento del reporte del estudio y 61.53% (8/13) negativos. Se encontraron 30 variantes entre los 13 pacientes analizados, 8 clasificadas como patogénicas acorde al ACMG, lo que corresponde al 26.67% de las variantes totales, y las restantes 22 variantes, fueron clasificadas como VUS acorde al ACMG, lo que equivale al 73.33%. Las variantes encontradas se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Variantes genéticas

Identificador de paciente	Gen	Variante	Cambio en la proteína	Cigosidad	Clasificación al momento del reporte
E1	<i>STXBPI</i>	c.1359+1G>C	Intrónica	Heterocigosis	Patogénica
	<i>STXBPI</i>	c.1322C>T	p.Thr441Ile	Heterocigosis	VUS

E2	<i>SCN1A</i>	c.5079dupG	p.Phe1694Valfs*4	Heterocigosis	Patogénica
E3	<i>GLDC</i>	c.1381C>T	p.Arg461Trp	Heterocigosis	Patogénica
	<i>GLDC</i>	c.2108delA	p.Asn703Metfs*24	Heterocigosis	Patogénica
E4	<i>ARHGEF9</i>	c.1246T>C	p.Trp423Arg	Heterocigosis	VUS*
E5	<i>CACNA1A</i>	c.6051-7C>T	Intrónica	Heterocigosis	VUS
E6	<i>ASXL2</i>	c.3971G>A	p.Gly1324Glu	Heterocigosis	VUS&
	<i>GFAP</i>	c.86G>A	p.Arg29His	Heterocigosis	VUS
	<i>POLG</i>	c.1613A>C	p.Glu538Ala	Heterocigosis	VUS
	<i>FARS2</i>	c.550G>A	p.Asp184Asn	Heterocigosis	VUS
E7	<i>ADAR</i>	c.547G>A	p.Gly183Ser	Heterocigosis	VUS
	<i>C19orf12</i>	c.194G>C	p.Gly65Ala	Heterocigosis	VUS*
	<i>CNTNAP2</i>	c.485T>G	p.Val162Gly	Heterocigosis	VUS
	<i>GLYCTK</i>	c.1313C>T	p.Pro438Leu	Heterocigosis	VUS
	<i>MTOR</i>	c.1985T>C	p.Val662Ala	Heterocigosis	VUS^
E8	<i>ZNF335</i>	c.3209C>G	p.Ser1070*	Heterocigosis	Patogénica
	<i>PLEKHG2</i>	c.2711C>G	p.Pro904Arg	Heterocigosis	VUS
	<i>PLEKHG2</i>	c.331G>A	p.Val111Met	Heterocigosis	VUS
E9	<i>TSC2</i>	c.4309_4312del	p.Ser1437Glyfs*38	Heterocigosis	Patogénica
E10	<i>MBD5</i>	c.779C>A	p.Ala260Asp	Heterocigosis	VUS&
	<i>SCN4A</i>	c.3604G>A	p.Glu1202Lys	Heterocigosis	VUS&
E11	<i>BTD</i>	c.528G>T	p.Lys176Asn	Heterocigosis	Patogénica
	<i>ELOVL1</i>	c.142C>T	p.Arg48Cys	Heterocigosis	VUS&
	<i>FH</i>	c.850A>G	p.Asn284Asp	Heterocigosis	VUS*
	<i>IDH2</i>	c.293T>C	p.Ille98Thr	Heterocigosis	VUS^
	<i>MECP2</i>	c.377+4A>G	Intrónica	Heterocigosis	VUS
E12	<i>ATP8A2</i>	c.1993G>A	p.Glu665Lys	Heterocigosis	VUS
	<i>ATP8A2</i>	c.2951A>C	p.Glu984Ala	Heterocigosis	VUS
E13	<i>SETD1A</i>	c.4582-2_4582-1del	Intrónica	Heterocigosis	Patogénica

\*Reclasificada a probablemente patogénica.

&Reclasificada a probablemente benigna.

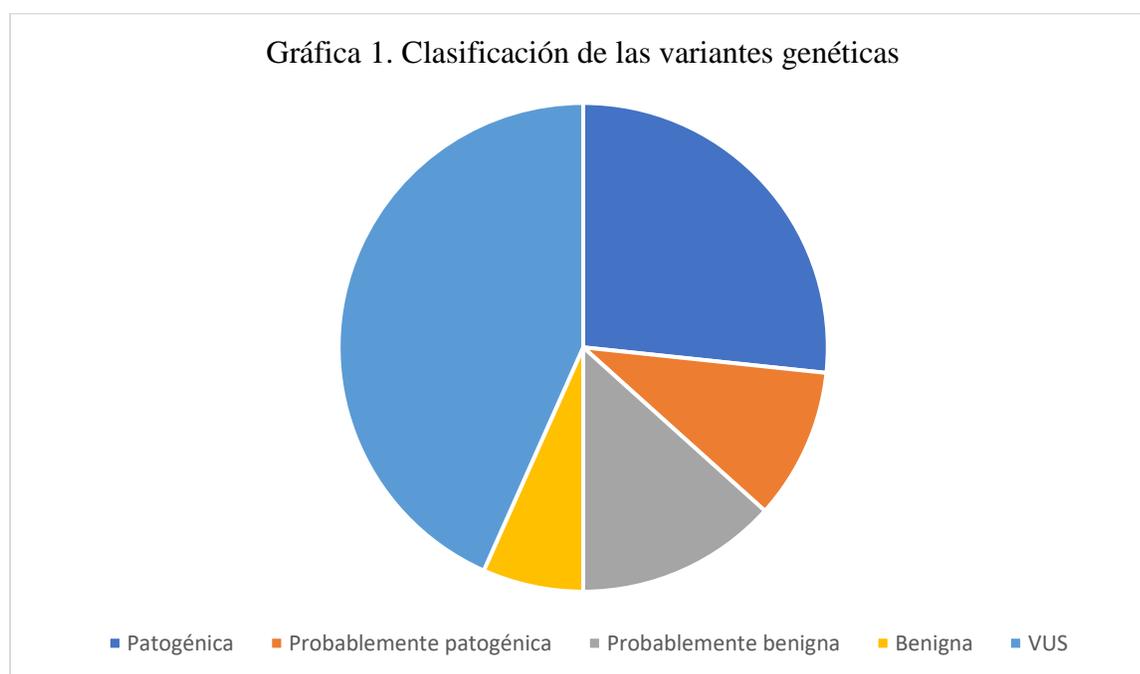
^Reclasificada a benigna.

Las VUS fueron reevaluadas con base en la frecuencia alélica encontrada en gnomAD, Human Genome Diversity Project y 1000 Genomes Project, los predictores in silico para variantes exónicas SIFT, Mutation taster, Polyphen2, GERP, MutationAssessor, REVEL y MetaLR, los predictores in silico para variantes intrónicas SpliceAI, dbSNV Ada y dbSNV RF, la

clasificación encontrada en bases de datos de variantes como Clinvar, Franklin, The Human Gene Mutation Database y Varsome, y por último, la segregación si esta se realizó (Anexo 1).

De las 22 VUS, 9 fueron reclasificadas usando los criterios del ACMG, 3 a probablemente patogénicas (\*), 4 a probablemente benignas (&), y 2 a benignas (^) (Tabla 4).

La distribución de las variantes después de la reclasificación quedó de la siguiente manera: 26.67% (8/30) clasificadas como patogénicas, 10% (3/30) como probablemente patogénicas, 13.33% (4/30) como probablemente benignas, 6.67% (2/30) como benignas y 43.33% (13/30) como VUS (Gráfica 1).



Con lo anterior se cambió el resultado de dos pacientes, pasando de negativos a positivos, aumentando el porcentaje de 38.47% (5/13) positivos a 53.85% (7/13). Las variantes genéticas responsable fueron *ARHGEF9:c.1246T>C* en el paciente E4 y *C19orf12:c.194G>C* en el paciente E7; con respecto a la variante *FH:c.850A>G* también reclasificada como probablemente patogénica, acorde al ACMG se considera como un hallazgo secundario, ya que se ha descrito en un síndrome de predisposición a cáncer.

Acorde al cuadro electroclínico y las variantes genéticas se encontraron 5 fenotipos que concuerdan con lo descrito en la literatura, esto corresponde al 38.46% de los casos, los cuales

fueron E1, E2, E3, E9 y E13 (tabla 5). Para una mayor descripción del cuadro clínico y de las variantes genéticas ver Anexo 2.

Tabla 5. Casos con fenotipo descrito en la literatura

Identificador del paciente	Gen	Locus	Producto funcional	Función	Diagnóstico genético
E1	<i>STXBPI</i>	9q34.11	Sintaxina 1	Liberación de neurotransmisores en la sinapsis y esencial para la supervivencia neuronal	Encefalopatía epiléptica y del desarrollo 4 (OMIM # 612164)
E2	<i>SCN1A</i>	2q24.3	Subunidad alfa 1 del canal de sodio dependiente de voltaje Nav1.1	Inicio y la propagación del potencial de acción	Síndrome de Dravet (OMIM # 607208)
E3	<i>GLDC</i>	9p24.1	Glicina descarboxilasa o proteína P	Cataliza la escisión de la glicina	Encefalopatía por glicina 1 o Hiperglicinemia no cetósica (OMIM # 605899)
E9	<i>TSC2</i>	16p13.3	Tuberina o TSC2	Inhibición de mTORC1	Complejo esclerosis tuberosa (OMIM # 613254)
E13	<i>SETD1A</i>	16p11.2	H3K4me1/2/3 metiltransferasa o SETD1A	Remodelador de la cromatina	Trastorno del neurodesarrollo con deterioro del habla y facies dismórfica (OMIM # 619056)

El caso E4 acorde a lo previamente descrito en la literatura pertenece a un fenotipo leve de los trastornos relacionados con *ARHGEF9* el cual no había sido descrito, a continuación, se detallan las características del caso:

El fenotipo electroclínico del paciente con inicio de las crisis epilépticas a los 5 años, de tipo tónico-clónicas generalizadas de más de 5 minutos de duración, en el EEG con datos de actividad epileptiforme aislada fronto-temporal izquierda y en el estudio de resonancia magnética de cerebro sin presencia de alteraciones estructurales.

Variante genética probablemente patogénica en heterocigosis el gen *ARHGEF9*, localizado en el locus Xq11.1, codifica para colibistina (Cb), factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) importante organizador en las sinapsis controladas por los neurotransmisores ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) y glicina, además de un papel en la regulación de la excitabilidad neuronal (Soykan et al., 2014), la variante c.1246T>C, previamente no relacionada a trastornos relacionado a *ARHGEF9*, y no reportada en ninguna base de datos.

Dado que el paciente es de sexo femenino y al ser un patología con patrón de herencia ligada al X, acorde a los casos reportados en la literatura donde la mayor parte de estos se reportaron con un reordenamiento cromosómico que incluía al cromosoma X, se le realizó cariotipo (Yang *et al.*, 2022), con resultado 46,XX, complemento cromosómico normal, por lo que se realizó una comparación con los dos únicos casos en la literatura de sexo femenino, cariotipo con complemento cromosómico 46,XX y una variante con cambio de sentido, reportados por Scala *et al.* (2021) (Tabla 6), encontrado que nuestra paciente presenta un fenotipo leve no descrito en pacientes femeninos, que se puede explicar por un patrón de inactivación al azar del cromosoma X, lo que amplía el espectro fenotípico de esta patología.

Tabla 6. Comparativo cuadro clínico

Caso	Variante en <i>ARHGEF9</i>	Clasificación acorde ACMG	Fenotipo	Hallazgos EEG	Hallazgos en RM de cerebro	Tratamiento
P1 (Scala, 2021)	c.311G>A (p.Arg104Gln) [NM_015185.2]	Probablemente patogénica	Discapacidad intelectual severa, regresión del lenguaje, hipotonía, crisis epilépticas focales, dismorfias faciales	Actividad lenta unilateral y ondas de punta/poli-punta	Hipoplasia de cuerpo caloso	Oxcarbazepina y ácido valproico (en control)
P2 (Scala, 2021)	c.535G>A, p.(Glu179Lys) [NM_015185.2]	Probablemente patogénica	Discapacidad intelectual moderada, retraso del lenguaje, hipotonía, dismorfias	Sin alteraciones	Sin alteraciones	Aripiprazol (en control)

			faciales, trastorno del espectro autista, episodios psicóticos			
E4	c.1246T>C, p.Trp416Arg) – ENST00000253401	Probablemente patogénica	Discapacidad intelectual leve, crisis epilépticas tónico-clónicas, dismorfias faciales	Actividad epileptiforme aislada fronto-temporal izquierda	Sin alteraciones	Levetiracetam (en control)

El caso E7, inicio de cuadro en la etapa neonatal, presenta crisis epilépticas tónico-clónicas con extensión de las 4 extremidades, versión cefálica a la derecha o a la izquierda y superversión de la mirada con duración de 40 a 60 segundos, en el EEG con complejos de onda aguda-onda lenta y punta-onda lenta de predominio en regiones frontocentrales, por último, en el estudio de resonancia magnética de cerebro con disminución del volumen cortico-subcortical generalizado, y datos de esclerosis mesial bilateral. En la exploración física con disartria, espasticidad Ashworth grado I en hemicuerpo izquierdo y Ashworth grado II en hemicuerpo derecho, hiperreflexia en extremidades inferiores y marcha con aumento de la base de sustentación.

Las variantes probablemente patogénicas o patogénicas en el gen *C19orf12* se asocian con neurodegeneración asociada a proteínas de la membrana mitocondrial (MPAN), esta patología presenta dos tipos de patrón de herencia, autosómico recesivo y autosómico dominante, este último al momento solo se ha descrito con variantes patogénicas que el exón 3 de este gen, el cuadro clínico es amplio incluyendo retraso en el desarrollo, espasticidad progresiva, distonía, disartria, disfagia, atrofia del nervio óptico y alteraciones neuropsiquiátricas con una edad de presentación muy amplia (Gregory et al., 2019).

El gen *C19orf12* con locus 19q12 codifica una pequeña proteína transmembrana que participa en la síntesis de ácidos grasos libres y en la expresión bioquímica de valina, leucina e isoleucina en las mitocondrias para reducir el nivel de coenzima A (Chen, S., et al., 2023); la variante c.194G>C reportada en bases poblacionales, sin embargo, no relacionada a trastornos de *C19orf12*, esta variante como se muestra en el anexo 1, altera el corte y empalme entre el exón 2 y el exón 3, demostrado mediante dbscSNV Ada y dbscSNV RF.

La variante c.194G>C, afecta el aminoácido Gly65, el cual se encuentra en el exón 3, en el sitio de corte y empalme, lo que afecta la estructura final de la proteína. Comparando el cuadro

clínico del paciente, este presenta alteraciones ya descritas en pacientes con MPAN, espasticidad, retraso en el desarrollo y disartria, sin embargo, la epilepsia, la característica clínica más importante de la paciente no ha sido descrita en pacientes con afectación en este gen, aunque si en otras patologías por acumulación de hierro (Emamikhah et al., 2023). Por otra parte, la madre es portadora de la variante y al momento no presenta sintomatología, pero dado que la edad de presentación de la enfermedad varía aún en portadores de la misma variante (Gregory et al., 2019), amerita seguimiento.

Una variante similar a la del paciente c.194G>T también con cambio en el aminoácido Gly65, ha sido reportada como patogénica y se ha descrito en casos de MPAN autosómica recesiva (Alavi et al., 2019), por lo que al momento no se puede concluir si esta variante es causante del cuadro clínico de la paciente, por lo que estudios más amplios como WES en trío y/o análisis funcionales deben ser realizados.

Por último, con respecto al tratamiento con medicamentos anticonvulsivos, se modificó en el caso E1 y se dieron recomendaciones en los casos E2 y E9 (tabla 7).

Tabla 7. Tratamiento con ASM, modificaciones y recomendaciones

<b>Identificador del paciente</b>	<b>Tratamiento con ASM previo al diagnóstico clínico-molecular</b>	<b>Modificación</b>	<b>Recomendaciones</b>
E1	Valproato de magnesio	Valproato de magnesio y levetiracetam (Stamberger et al., 2017)	-----
E2	Valproato de magnesio, lacosamida, levetiracetam, topiramato	-----	Evitar el uso de carbamazepina, oxcarbazepina, lacosamida, lamotrigina, vigabatrina, gabapentina y pregabalina.

			Uso de clobazam y valproato de magnesio (Strzelczyk & Schubert-Bast, 2022)
E9	Levetiracetam	-----	Uso de vigabatrina (Singh et al., 2023)

## DISCUSIÓN

La realización de estudio molecular permitió el diagnóstico genético en 46.15% (6/13) de los casos, un porcentaje mayor comparándolo con los estudios realizado por Demos *et al.* (2019) y Peng *et al.* (2019) en donde el porcentaje fue de 33% (59/180) y 31.5% (86/273) respectivamente, sin embargo, esto puede deberse al menor número de casos analizados en nuestro estudio, además se identificaron 5 fenotipos ya conocidos, lo que a su vez permitió modificar o dar recomendaciones con respecto al tratamiento con ASM en un 60% de los casos (3/5), con respecto al 45.76% (27/59) y 39.53% (34/86) descritos en los estudios de Demos el al. (2019) y Peng et al. (2019), respectivamente.

Dentro de los 6 casos con diagnóstico genético, se identificó un fenotipo leve asociado al gen *ARHGEF9*, el cual previamente no se había descrito en pacientes femeninas con mutación en este gen en los dos únicos casos descritos por Scala *et al.* (2021), esta variación en el fenotipo puede estar dada por dos factores, uno la inactivación al azar del cromosoma X y dos por la localización de la mutación en el dominio homólogo a plextrina, un dominio que no afecta la función de intercambio de nucleótidos de guanina, siendo la principal de la proteína, aunque si la vía de señalización de fosfoinosítidos, parte del sistema de tráfico endocítico y exocítico (Hines et al., 2022). Esta descripción permitió una expansión del espectro fenotípico de las patologías asociadas a *ARHGEF9*.

Con respecto a los casos E5, E8, E10 y E12 con VUS reportadas por MGP, estas no cambiaron de clasificación después de la reevaluación y los genes reportados no mostraban asociación con el fenotipo, por lo que en ese momento no se estableció un diagnóstico genético. Sin embargo, como todos cumplen con criterios para sospechar de origen genético, como edad de inicio y resistencia al tratamiento, deberán someterse a WES para confirmar su diagnóstico.

El caso E6, por la presencia de epilepsia y ataxia sin afectación en el neurodesarrollo, nos hace sospechar de etiología genética, sin embargo, con principal sospecha una patología por expansión de microsatélites, por lo que el mejor estudio en este caso sería WGS con análisis de repetidos (Dolzhenko et al., 2019).

Por último, el caso E11, la paciente presenta una variante de significado incierto en el gen *MECP2*, este gen con locus Xq28, codifica para la proteína de unión a metil CpG 2 (MeCP2), un miembro de una compleja familia de proteínas, la familia de proteínas del dominio de unión a metil-CpG (MBD), que se une a citosinas metiladas. Entre la familia MBD, MeCP2 es la más abundante en el cerebro adulto y establece un vínculo entre la metilación del ADN y la estructura de cromatina de orden superior a través de interacciones con modificadores de la cromatina (Gulmez Karaca et al., 2019). Variantes patogénicas o probablemente patogénicas en este gen se relacionan con síndrome de Rett. En el caso de la paciente la variante c.377+4A>G, acorde a los predictores in silico sugiere una afectación de la estructura del ARNm, sin embargo, en la mayor base de datos relacionada a *MECP2*, creada por Krishnaraj et al. (2017) ([http://mecp2.chw.edu.au/mecp2/mecp2\\_home.php](http://mecp2.chw.edu.au/mecp2/mecp2_home.php)), no se encuentra reportada, por lo que el estudio de segregación en ambos padres ayudaría a la reclasificación de esta variante, ya que el cuadro clínico coincide con síndrome de Rett atípico.

Además de lo mencionado en el caso E11, en donde se logró reclasificar la variante en heterocigosis en el gen *FH*, como probablemente patogénica, este gen con locus 1q42.3, codifica para la enzima fumarato hidratasa, esta cataliza la conversión de ácido fumárico en ácido málico en el ciclo del ácido tricarboxílico. Mutaciones en este gen conducen a la acumulación de ácido fumárico y a una disminución de los niveles de hierro en las células, lo que inhibe la prolin hidroxilasa del factor inducible por hipoxia (HIF) y aumenta el nivel de HIF intracelular. Así, afectando la transcripción de productos posteriores, la angiogénesis y la proliferación celular (Lv et al., 2023). Variantes bialélicas en *FH* ocasionan deficiencia de fumarato hidratasa una patología asociada con anomalías cerebrales y del desarrollo, crisis epilépticas y alta mortalidad infantil, mientras que variantes monoalélicas con leiomiomatosis hereditaria y cáncer de células renales (Grocott et al., 2020). Este caso corresponde a una paciente del sexo femenino, con variante probablemente patogénica en heterocigosis, por lo tanto, tiene riesgo de presentar leiomiomatosis hereditaria y cáncer de células renales, por lo que se les informó a los padres, ya que es un síndrome

de predisposición a cáncer en el que se debe iniciar seguimiento entre los 5-8 años (Menko et al., 2014).

Con respecto al asesoramiento genético, 4 de los casos corresponden a una patología con patrón de herencia autosómico dominante (E1, E2, E9 y E13), los casos E1, E9 y E13 no refirieron antecedentes heredofamiliares de patologías neurológicas ni genéticas y dado que los genes afectados presentan penetrancia completa, se consideraron casos *de novo* y se dio un riesgo a los padres en caso de deseos de nuevo embarazo de 1-2% acorde a lo descrito en la literatura (Bernkopf et al., 2023) y el riesgo para la descendencia de los pacientes afectados es del 50% de presentar la patología por embarazo. En el caso E2 con variante genética en el gen *SCN1A* presenta un patrón de herencia autosómico dominante con penetrancia incompleta (Chen et al., 2022), por lo que, dado los antecedentes de tercer grado por rama materna con epilepsia, se le recomendó a la madre y a sus familiares directos la realización de estudio de segregación, ya que pueden ser portadores de la variante patogénica y presentan riesgo de heredar la variante a su descendencia y que esta si presente la patología. El caso E3, con una patología con patrón de herencia autosómico recesivo, el riesgo para la descendencia de los padres por embarazo es del 25% de presentar la patología, el 50% de ser portadores de una de las variantes patogénicas y el 25% de ser sanos. Por último, para el caso E4, al presentar una patología con patrón de herencia ligado al X, el riesgo para su descendencia es acorde el sexo, en caso de un masculino sería del 50% de presentar la patología y para los femeninos el riesgo sería del 50% de presentar la patología.

Como es frecuente con estudios clínicos en pacientes con enfermedades raras, el tamaño muestral es limitado y constriñe el análisis y significancia estadístico de los datos, sin embargo, consideramos una fortaleza, la descripción de un fenotipo leve de epilepsia gen-específico, por *ARHGEF9* y el poder complementar el conocimiento de este grupo de patologías.

## CONCLUSIONES

La reevaluación de las variantes reportadas en los casos estudiados permitió reclasificar 9 variantes de significado incierto usando los criterios del ACMG, 3 a probablemente patogénicas, 4 a probablemente benignas, y 2 a benignas. Con lo que se confirmó el diagnóstico genético del caso E4, se continuará en seguimiento con el caso E7, y se informó de un síndrome de predisposición a cáncer al caso E11.

Con el análisis del genotipo se modificó el tratamiento de ASM a un paciente (caso E1) y se dieron recomendaciones sobre manejo con ASM a otros dos pacientes (caso E2 y E9).

En los casos analizados se encontró un fenotipo leve asociado a trastornos relacionados con *ARHGEF9* en un paciente femenino, con lo que se cumplió el objetivo general del trabajo.

## REFERENCIAS

- Aaberg, K. M., Surén, P., Søråas, C. L., Bakken, I. J., Lossius, M. I., Stoltenberg, C., & Chin, R. (2017). Seizures, syndromes, and etiologies in childhood epilepsy: The International League Against Epilepsy 1981, 1989, and 2017 classifications used in a population-based cohort [versión electrónica]. *Epilepsia*, 58(11), 1880–1891.
- Abramov, D., Guiberson, N. G. L., & Burré, J. (2021). STXBP1 encephalopathies: Clinical spectrum, disease mechanisms, and therapeutic strategies [versión electrónica]. *Journal of neurochemistry*, 157(2), 165–178.
- Alavi, A., Mokhtari, M., Hajati, R., Davarzani, A., Fasano, A., Lang, A. E., & Rohani, M. (2019). Late-Onset Mitochondrial Membrane Protein-Associated Neurodegeneration With Extensive Brain Iron Deposition [versión electrónica]. *Movement disorders clinical practice*, 7(1), 120–121.
- Bernkopf, M., Abdullah, U. B., Bush, S. J., Wood, K. A., Ghaffari, S., Giannoulatou, E., Koelling, N., Maher, G. J., Thibaut, L. M., Williams, J., Blair, E. M., Kelly, F. B., Bloss, A., Burkitt-Wright, E., Canham, N., Deng, A. T., Dixit, A., Eason, J., Elmslie, F., Gardham, A., ... Goriely, A. (2023). Personalized recurrence risk assessment following the birth of a child with a pathogenic de novo mutation [versión electrónica]. *Nature communications*, 14(1), 853.
- Bosak, M., Słowik, A., Kacorzyk, R., & Turaj, W. (2019). Implementation of the new ILAE classification of epilepsies into clinical practice - A cohort study [versión electrónica]. *Epilepsy & behavior: E&B*, 96, 28–32.
- Brunklaus, A., Pérez-Palma, E., Ghanty, I., Xinge, J., Brilstra, E., Ceulemans, B., Chemaly, N., de Lange, I., Depienne, C., Guerrini, R., Mei, D., Møller, R. S., Nabbout, R., Regan, B. M., Schneider, A. L., Scheffer, I. E., Schoonjans, A. S., Symonds, J. D., Weckhuysen, S., Kattan, M. W., ... Lal, D. (2022). Development and Validation of a Prediction Model for Early Diagnosis of SCN1A-Related Epilepsies [versión electrónica]. *Neurology*, 98(11), e1163–e1174.
- Byrne, S., Enright, N., & Delanty, N. (2021). Precision therapy in the genetic epilepsies of childhood [versión electrónica]. *Developmental medicine and child neurology*, 63(11), 1276–1282.
- Chen, C., Fang, F., Wang, X., Lv, J., Wang, X., & Jin, H. (2022). Phenotypic and Genotypic Characteristics of SCN1A Associated Seizure Diseases [versión electrónica]. *Frontiers in molecular neuroscience*, 15, 821012.
- Chen, S., Lai, X., Fu, J., Yang, J., Zhao, B., Shang, H., Huang, R., & Chen, X. (2023). A novel C19ORF12 mutation in two MPAN sisters treated with deferiprone [versión electrónica]. *BMC neurology*, 23(1), 134.
- Chiron C. (2019). Stiripentol for the treatment of seizures associated with Dravet síndrome [versión electrónica]. *Expert review of neurotherapeutics*, 19(4), 301–310.
- Demos, M., Guella, I., DeGuzman, C., McKenzie, M. B., Buerki, S. E., Evans, D. M., Toyota, E. B., Boelman, C., Huh, L. L., Datta, A., Michoulas, A., Selby, K., Bjornson, B. H., Horvath, G., Lopez-Rangel, E., van Karnebeek, C. D. M., Salvarinova, R., Slade, E., Eydoux, P., Adam, S., ... Farrer, M. J. (2019). Diagnostic Yield and Treatment Impact of Targeted Exome Sequencing in Early-Onset Epilepsy [versión electrónica]. *Frontiers in neurology*, 10, 434.
- Devinsky, O., Cross, J. H., & Wright, S. (2017). Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome [versión electrónica]. *The New England journal of*

- medicine*, 377(7), 699–700.
- Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T. J., Jette, N., Scheffer, I. E., de Curtis, M., & Perucca, P. (2018). Epilepsy [versión electrónica]. *Nature reviews Disease primers*, 4, 18024.
- Ding, J., Li, X., Tian, H., Wang, L., Guo, B., Wang, Y., Li, W., Wang, F., & Sun, T. (2021). SCN1A Mutation-Beyond Dravet Syndrome: A Systematic Review and Narrative Synthesis [versión electrónica]. *Frontiers in neurology*, 12, 743726.
- Dolzhenko, E., Deshpande, V., Schlesinger, F., Krusche, P., Petrovski, R., Chen, S., Emig-Agius, D., Gross, A., Narzisi, G., Bowman, B., Scheffler, K., van Vugt, J. J. F. A., French, C., Sanchis-Juan, A., Ibáñez, K., Tucci, A., Lajoie, B. R., Veldink, J. H., Raymond, F. L., Taft, R. J., ... Eberle, M. A. (2019). ExpansionHunter: a sequence-graph-based tool to analyze variation in short tandem repeat regions [versión electrónica]. *Bioinformatics* (Oxford, England), 35(22), 4754–4756.
- Ellis, C. A., Petrovski, S., & Berkovic, S. F. (2020). Epilepsy genetics: clinical impacts and biological insights [versión electrónica]. *The Lancet. Neurology*, 19(1), 93–100.
- Emamikhah, M., Saiyarsarai, P., Schneider, S. A., Fasano, A., Mohammadzadeh, N., & Rohani, M. (2023). Seizure in Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation: A Systematic Review [versión electrónica]. *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques*, 50(1), 60–71.
- Falco-Walter J. (2020). Epilepsy-Definition, Classification, Pathophysiology, and Epidemiology [versión electrónica]. *Seminars in neurology*, 40(6), 617–623.
- Farris, J., Calhoun, B., Alam, M. S., Lee, S., & Haldar, K. (2020). Large scale analyses of genotype-phenotype relationships of glycine decarboxylase mutations and neurological disease severity [versión electrónica]. *PLoS computational biology*, 16(5), e1007871.
- Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Jr, Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy [versión electrónica]. *Epilepsia*, 55(4), 475–482.
- Gregory, A., Lotia, M., Jeong, S. Y., Fox, R., Zhen, D., Sanford, L., Hamada, J., Jahic, A., Beetz, C., Freed, A., Kurian, M. A., Cullup, T., van der Weijden, M. C. M., Nguyen, V., Setthavongsack, N., Garcia, D., Krajbich, V., Pham, T., Woltjer, R., George, B. P., ... Hayflick, S. J. (2019). Autosomal dominant mitochondrial membrane protein-associated neurodegeneration (MPAN) [versión electrónica]. *Molecular genetics & genomic medicine*, 7(7), e00736.
- Grocott, O., Phanor, S. K., Fung, F., Thibert, R. L., & Berkmen, M. B. (2020). Clinical report and biochemical analysis of a patient with fumarate hydratase deficiency [versión electrónica]. *American journal of medical genetics. Part A*, 182(3), 504–507.
- Guiberson, N. G. L., Pineda, A., Abramov, D., Kharel, P., Carnazza, K. E., Wragg, R. T., Dittman, J. S., & Burré, J. (2018). Mechanism-based rescue of Munc18-1 dysfunction in varied encephalopathies by chemical chaperones. *Nature communications*, 9(1), 3986.
- Gulmez Karaca, K., Brito, D. V. C., & Oliveira, A. M. M. (2019). MeCP2: A Critical Regulator of Chromatin in Neurodevelopment and Adult Brain Function [versión electrónica]. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4577.
- Helbig, I., Heinzen, E. L., Mefford, H. C., & ILAE Genetics Commission (2016). Primer Part 1-The building blocks of epilepsy genetics [versión electrónica]. *Epilepsia*, 57(6), 861–868.

- Hines, D. J., Contreras, A., Garcia, B., Barker, J. S., Boren, A. J., Moufawad El Achkar, C., Moss, S. J., & Hines, R. M. (2022). Human ARHGEF9 intellectual disability syndrome is phenocopied by a mutation that disrupts collybistin binding to the GABAA receptor  $\alpha 2$  subunit [versión electrónica]. *Molecular psychiatry*, 27(3), 1729–1741.
- Krey, I., Platzer, K., Esterhuizen, A., Berkovic, S. F., Helbig, I., Hildebrand, M. S., Lerche, H., Lowenstein, D., Møller, R. S., Poduri, A., Sadleir, L., Sisodiya, S. M., Weckhuysen, S., Wilmshurst, J. M., Weber, Y., Lemke, J. R., Berkovic, S. F., Cross, J. H., Helbig, I., Lerche, H., ... Weckhuysen, S. (2022). Current practice in diagnostic genetic testing of the epilepsies. Current practice in diagnostic genetic testing of the epilepsies [versión electrónica]. *Epileptic disorders: international epilepsy journal with videotape*, 24(5), 765–786.
- Krishnaraj, R., Ho, G., & Christodoulou, J. (2017). RettBASE: Rett síndrome database update [versión electrónica]. *Human mutation*, 38(8), 922–931.
- Kummeling, J., Stremmelaar, D. E., Raun, N., Reijnders, M. R. F., Willemsen, M. H., Ruitkamp-Versteeg, M., Schepens, M., Man, C. C. O., Gilissen, C., Cho, M. T., McWalter, K., Sinnema, M., Wheless, J. W., Simon, M. E. H., Genetti, C. A., Casey, A. M., Terhal, P. A., van der Smagt, J. J., van Gassen, K. L. I., Joset, P., ... Kleefstra, T. (2021). Characterization of SETD1A haploinsufficiency in humans and Drosophila defines a novel neurodevelopmental síndrome [versión electrónica]. *Molecular psychiatry*, 26(6), 2013–2024.
- Lossius, K., de Saint Martin, A., Myren-Svelstad, S., Bjørnvold, M., Minken, G., Seegmuller, C., Valenti Hirsch, M. P., Chelly, J., Steinlein, O., Picard, F., & Brodtkorb, E. (2020). Remarkable effect of transdermal nicotine in children with CHRNA4-related autosomal dominant sleep-related hypermotor epilepsy [versión electrónica]. *Epilepsy & behavior: E&B*, 105, 106944.
- Lv, Y., Song, L., & Hu, M. (2023). Fumarate hydratase-deficient renal cell carcinoma: a case report and review of the literatura [versión electrónica]. *Journal of medical case reports*, 17(1), 182.
- Madigan, J. P., Hou, F., Ye, L., Hu, J., Dong, A., Tempel, W., Yohe, M. E., Randazzo, P. A., Jenkins, L. M. M., Gottesman, M. M., & Tong, Y. (2018). The tuberous sclerosis complex subunit TBC1D7 is stabilized by Akt phosphorylation-mediated 14-3-3 binding [versión electrónica]. *The Journal of biological chemistry*, 293(42), 16142–16159.
- Meisler, M. H., Hill, S. F., & Yu, W. (2021). Sodium channelopathies in neurodevelopmental disorders [versión electrónica]. *Nature reviews. Neuroscience*, 22(3), 152–166.
- Menko, F. H., Maher, E. R., Schmidt, L. S., Middleton, L. A., Aittomäki, K., Tomlinson, I., Richard, S., & Linehan, W. M. (2014). Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer (HLRCC): renal cancer risk, surveillance and treatment [versión electrónica]. *Familial cancer*, 13(4), 637–644.
- Peng, J., Pang, N., Wang, Y., Wang, X. L., Chen, J., Xiong, J., Peng, P., Zhu, C. H., Kessi, M. B., He, F., & Yin, F. (2019). Next-generation sequencing improves treatment efficacy and reduces hospitalization in children with drug-resistant epilepsy [versión electrónica]. *CNS neuroscience & therapeutics*, 25(1), 14–20.
- Perucca, P., Bahlo, M., & Berkovic, S. F. (2020). The Genetics of Epilepsy [versión electrónica]. *Annual review of genomics and human genetics*, 21, 205–230.
- Phillips, H. A., Scheffer, I. E., Berkovic, S. F., Hollway, G. E., Sutherland, G. R., & Mulley, J. C. (1995). Localization of a gene for autosomal dominant nocturnal frontal lobe

- epilepsy to chromosome 20q13.2 [versión electrónica]. *Nature genetics*, 10(1), 117–118.
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., Rehm, H. L., & ACMG Laboratory Quality Assurance Committee (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology [versión electrónica]. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, 17(5), 405–424.
- Ritter, D. M., & Holland, K. (2020). Genetic Testing in Epilepsy [versión electrónica]. *Seminars in neurology*, 40(6), 730–738.
- Ruggiero, S. M., Xian, J., & Helbig, I. (2023). The current landscape of epilepsy genetics: where are we, and where are we going? [versión electrónica]. *Current opinion in neurology*, 36(2), 86–94.
- Salussolia, C. L., Klonowska, K., Kwiatkowski, D. J., & Sahin, M. (2019). Genetic Etiologies, Diagnosis, and Treatment of Tuberous Sclerosis Complex [versión electrónica]. *Annual review of genomics and human genetics*, 20, 217–240.
- Santos-Peyret, A. S., Crail-Meléndez, D., Sebastián-Díaz, M. A., Velasco-Vázquez, C., Del Río-Quñones, M. A., Gómez-Figueroa, E., Reséndiz-Aparicio, J. C., Rubio-Donnadieu, F., & Martínez-Juárez, I. E. (2022). Descripción de los centros de referencia de pacientes con epilepsia para iniciar el Proyecto TeleECHO en un instituto de salud [versión electrónica]. *Archivos De Neurociencias*, 27(1), 23–28.
- Scala, M., Zonneveld-Huijssoon, E., Brienza, M., Mecarelli, O., van der Hout, A. H., Zambrelli, E., Turner, K., Zara, F., Peron, A., Vignoli, A., & Striano, P. (2021). De novo ARHGEF9 missense variants associated with neurodevelopmental disorder in females: expanding the genotypic and phenotypic spectrum of ARHGEF9 disease in females [versión electrónica]. *Neurogenetics*, 22(1), 87–94.
- Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H., & Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology [versión electrónica]. *Epilepsia*, 58(4), 512–521.
- Sheidley, B. R., Malinowski, J., Bergner, A. L., Bier, L., Gloss, D. S., Mu, W., Mulhern, M. M., Partack, E. J., & Poduri, A. (2022). Genetic testing for the epilepsies: A systematic review [versión electrónica]. *Epilepsia*, 63(2), 375–387.
- Singh, A., Hadjinicolaou, A., Peters, J. M., & Salussolia, C. L. (2023). Treatment-Resistant Epilepsy and Tuberous Sclerosis Complex: Treatment, Maintenance, and Future Directions [versión electrónica]. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 19, 733–748.
- Singh, R., Gardner, R. J., Crossland, K. M., Scheffer, I. E., & Berkovic, S. F. (2002). Chromosomal abnormalities and epilepsy: a review for clinicians and gene hunters [versión electrónica]. *Epilepsia*, 43(2), 127–140.
- Singh, T., Kurki, M. I., Curtis, D., Purcell, S. M., Crooks, L., McRae, J., Suvisaari, J., Chheda, H., Blackwood, D., Breen, G., Pietiläinen, O., Gerety, S. S., Ayub, M., Blyth, M., Cole, T., Collier, D., Coomber, E. L., Craddock, N., Daly, M. J., Danesh, J., ... Barrett, J. C. (2016). Rare loss-of-function variants in SETD1A are associated with schizophrenia and developmental disorders [versión electrónica]. *Nature neuroscience*, 19(4), 571–577.

- Soykan, T., Schneeberger, D., Tria, G., Buechner, C., Bader, N., Svergun, D., Tessmer, I., Pouloupoulos, A., Papadopoulos, T., Varoqueaux, F., Schindelin, H., & Brose, N. (2014). A conformational switch in collybistin determines the differentiation of inhibitory postsynapses [versión electrónica]. *The EMBO journal*, 33(18), 2113–2133.
- Specchio, N., Pietrafusa, N., Doccini, V., Trivisano, M., Darra, F., Ragona, F., Cossu, A., Spolverato, S., Battaglia, D., Quintiliani, M., Luigia Gambardella, M., Rosati, A., Mei, D., Granata, T., Dalla Bernardina, B., Vigevano, F., & Guerrini, R. (2020). Efficacy and safety of Fenfluramine hydrochloride for the treatment of seizures in Dravet syndrome: A real-world study [versión electrónica]. *Epilepsia*, 61(11), 2405–2414.
- Stamberger H, Weckhuysen S, De Jonghe P. STXBP1 as a therapeutic target for epileptic encephalopathy [versión electrónica]. *Expert Opin Ther Targets*. 2017 Nov;21(11):1027-1036.
- Stamberger, H., Crosiers, D., Balagura, G., Bonardi, C. M., Basu, A., Cantalupo, G., Chiesa, V., Christensen, J., Dalla Bernardina, B., Ellis, C. A., Furia, F., Gardiner, F., Giron, C., Guerrini, R., Klein, K. M., Korff, C., Krijtova, H., Leffler, M., Lerche, H., Lesca, G., ... Weckhuysen, S. (2022). Natural History Study of STXBP1-Developmental and Epileptic Encephalopathy Into Adulthood [versión electrónica]. *Neurology*, 99(3), e221–e233.
- Steinlein O. K. (2008). Genetics and epilepsy [versión electrónica]. *Dialogues in clinical neuroscience*, 10(1), 29–38.
- Steinlein, O. K., Mulley, J. C., Propping, P., Wallace, R. H., Phillips, H. A., Sutherland, G. R., Scheffer, I. E., & Berkovic, S. F. (1995). A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy [versión electrónica]. *Nature genetics*, 11(2), 201–203.
- Strzelczyk, A., & Schubert-Bast, S. (2022). A Practical Guide to the Treatment of Dravet Syndrome with Anti-Seizure Medication [versión electrónica]. *CNS drugs*, 36(3), 217–237.
- Sullivan, J., Gunning, B., Zafar, M., Guerrini, R., Gecz, J., Kolc, K. L., Zhao, Y., Gasior, M., Aimetti, A. A., & Samanta, D. (2023). Phase 2, placebo-controlled clinical study of oral ganaxolone in PCDH19-clustering epilepsy [versión electrónica]. *Epilepsy research*, 191, 107112.
- Wang, S., Bleack, A., Nadif Kasri, N., Kleefstra, T., van Rhijn, J. R., & Schubert, D. (2021). SETD1A Mediated H3K4 Methylation and Its Role in Neurodevelopmental and Neuropsychiatric Disorders [versión electrónica]. *Frontiers in molecular neuroscience*, 14, 772000.
- Wirrell, E. C., Nabbout, R., Scheffer, I. E., Alsaadi, T., Bogacz, A., French, J. A., Hirsch, E., Jain, S., Kaneko, S., Riney, K., Samia, P., Snead, O. C., Somerville, E., Specchio, N., Trinka, E., Zuberi, S. M., Balestrini, S., Wiebe, S., Cross, J. H., Perucca, E., ... Tinuper, P. (2022). Methodology for classification and definition of epilepsy syndromes with list of syndromes: Report of the ILAE Task Force on Nosology and Definitions [versión electrónica]. *Epilepsia*, 63(6), 1333–1348.
- Wirrell, E., Tinuper, P., Perucca, E., & Moshé, S. L. (2022). Introduction to the epilepsy syndrome papers [versión electrónica]. *Epilepsia*, 63(6), 1330–1332.
- Xian, J., Parthasarathy, S., Ruggiero, S. M., Balagura, G., Fitch, E., Helbig, K., Gan, J., Ganesan, S., Kaufman, M. C., Ellis, C. A., Lewis-Smith, D., Galer, P., Cunningham, K., O'Brien, M., Cosico, M., Baker, K., Darling, A., Veiga de Goes, F., El Achkar, C. M., Doering, J. H., ... Helbig, I. (2022). Assessing the landscape of STXBP1-related

- disorders in 534 individuals [versión electrónica]. *Brain: a journal of neurology*, 145(5), 1668–1683.
- Yang, H., Liao, H., Gan, S., Xiao, T., & Wu, L. (2022). ARHGEF9 gene variant leads to developmental and epileptic encephalopathy: Genotypic phenotype analysis and treatment exploration [versión electrónica]. *Molecular genetics & genomic medicine*, 10(7), e1967.
- Yu, X., Yang, L., Li, J., Li, W., Li, D., Wang, R., Wu, K., Chen, W., Zhang, Y., Qiu, Z., & Zhou, W. (2019). De Novo and Inherited SETD1A Variants in Early-onset Epilepsy [versión electrónica]. *Neuroscience bulletin*, 35(6), 1045–1057.
- Zhao, J. H., Liu, H. L., Lin, H. Y., Huang, C. H., Fang, H. W., Chen, S. S., Ho, Y., Tsai, W. B., & Chen, W. Y. (2007). Chemical chaperone and inhibitor discovery: potential treatments for protein conformational diseases [versión electrónica]. *Perspectives in medicinal chemistry*, 1, 39–48.
- Zimmern, V., & Korff, C. (2022). Updates on the diagnostic evaluation, genotype-phenotype correlation, and treatments of genetic epilepsies [versión electrónica]. *Current opinion in pediatrics*, 34(6), 538–543.

## Anexo 1. Análisis de variantes genéticas

Identificador de paciente	Gen	Variante	Cambio en la proteína	Cisgicidad	Frecuencia alélica		Predictores In silico												Base de datos de enfermedades						Reclasificación
					gnomAD	Human Genome Diversity Project	CADD	SpliceAI	dbSNV Ada	dbSNV RF	SIFT	Mutation taster	PolyPhen2	GERP	Mutation-Assessor	REVEL	MetalR	Civur	Franklin	The Human Gene Mutation Database	Varsome	Segregación	Criterios ACMG		
E1	<i>STXB1</i>	c.1359+1G>C	Intrónica	Het	NR	NR	Probablemente deletéreo (34)	Deletéreo (1)	Deletéreo (1)	Deletéreo (0.95)	NA	Deletéreo (1)	NA	Incierto (5.09)	NA	NA	NA	NR	LP	NR	P	NA	PVS1, PM2	P	
	<i>STXB1</i>	c.1322C>T	p.Thr44Ile	Het	NR	NR	Probablemente benigno (21.4)	NA	NA	NA	Benigno (0.188)	Deletéreo (1)	Benigno (0.022)	Incierto (5.2)	Neutral (0.6)	Benigno (0.23)	Benigno (0.33)	NR	VUS	NR	VUS	NA	PM2, PP2, BP4	VUS	
E2	<i>SCN1A</i>	c.5079dupG	p.Phe1694Valfs*4	Het	NR	NR	NA	NA	NA	NA	NA	Deletéreo (1)	NA	NA	NA	NA	NA	NR	LP	NR	LP	NA	PVS1, PM2	P	
E3	<i>GLDC</i>	c.1381C>T	p.Arg461Trp	Het	NR	<0.01%	Probablemente deletéreo (32)	NA	NA	NA	Deletéreo (0)	Deletéreo (1)	Probablemente deletéreo (1)	Incierto (4.82)	Patogénico Moderado (2.63)	Deletéreo (0.92)	Deletéreo (0.93)	P	P	P	P	NA	PP3, PP3, PM2, PM5, PP2	P	
	<i>GLDC</i>	c.2108delA	p.Asn703Metfs*24	Het	NR	NR	NA	NA	NA	NA	NA	Deletéreo (1)	NA	NA	NA	NA	NA	NR	LP	NR	LP	NA	PVS1, PM2	P	
E4	<i>ARHGEP9</i>	c.1246T>C	p.Trp423Arg	Het	NR	NR	Probablemente deletéreo (27.5)	NA	NA	NA	Deletéreo (0)	Deletéreo (1)	NA	Deletéreo	Patogénico Moderado (3.25)	Deletéreo moderado (0.932)	Patogénico (0.984)	NR	LP	NR	LP	NA	PM2, PM6, PP3, PP4	LP	
E5	<i>CACNA1A</i>	c.6051-7C>T	Intrónica	Het	NR	NR	NA	Benigno (0)	Benigno (0)	Benigno (0)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NR	VUS	NR	B	NA	PM2, BP4	VUS	
E6	<i>ASXL2</i>	c.3971G>A	p.Gly134Glu	Het	0.05%	<0.1%	Probablemente deletéreo (25)	NA	NA	NA	Deletéreo (0)	Benigno (0)	NA	Incierto (6.03)	Benigno (1.7)	Incierto (0.32)	Benigno (0.15)	VUS	VUS	VUS	B	NA	BS1, BS2, BP1	LB	
	<i>GFP</i>	c.86G>A	p.Arg29His	Het	0.01%	NR	NA	NA	NA	NA	Benigno (0.252)	Incierto	NA	Benigno (1.21)	Benigno (1.65)	Benigno (0.127)	Benigno (0.31)	VUS	VUS	NR	B	NA	PM2, PP2, BP4	VUS	
	<i>POLG</i>	c.1613A>C	p.Glu538Ala	Het	0.0196%	NR	NA	NA	NA	NA	Benigno (0.113)	Benigno (0)	NA	Incierto (5.59)	Benigno (2.36)	Benigno (0.418)	Incierto (0.595)	VUS	VUS	NR	B	NA	PM2, PP2, BP4	VUS	
	<i>FARS2</i>	c.550G>A	p.Asp184Asn	Het	0.1507%	NR	Probablemente deletéreo (28)	NA	NA	NA	Incierto (0.013)	Deletéreo (1)	NA	Incierto (5.68)	Patogénico moderado (4.105)	Deletéreo (0.69)	Incierto (0.6679)	VUS	VUS	VUS	NA	NA	PM2, PP3	VUS	
E7	<i>ADAR</i>	c.547G>A	p.Gly183Ser	Het	0.028%	NR	Probablemente benigno (23.3)	NA	NA	NA	Incierto (0.021)	Deletéreo (1)	NA	Incierto (3.6)	Incierto (2.125)	Incierto (0.43)	Benigno (0.38)	VUS	VUS	NR	LB	Padre	PM2, BP4	VUS	
	<i>C19orf12</i>	c.194G>C	p.Gly65Ala	Het	0.0327%	0.0091%	Probablemente deletéreo (32)	Incierto (0.1)	Deletéreo (1)	Deletéreo (0.95)	Deletéreo (0)	Deletéreo (1)	NA	Incierto (4.92)	Patogénica (3.27)	Deletéreo moderado (0.87)	Incierto (0.7515)	VUS	LP	NR	P	Madre	PM2, PM5, PP3, PM1, PP2	LP	
	<i>CNTNAP2</i>	c.485T>G	p.Val162Gly	Het	0.0781%	0.0091%	Probablemente deletéreo (26.1)	NA	NA	NA	Incierto (0.001)	Deletéreo (1)	Incierto (0.84)	Incierto (5.47)	Patogénico moderado (2.93)	Deletéreo (0.84)	Deletéreo (0.94)	VUS	VUS	NR	VUS	Padre	PP3, BP1	VUS	
	<i>GLYCK1</i>	c.1313C>T	p.Pro438Leu	Het	0.2762%	0.0248%	Probablemente benigno (21.7)	NA	NA	NA	Benigno (0.117)	Benigno (0)	Benigno (0.02)	Incierto (2.97)	Patogénico moderado (2.96)	Benigno (0.07)	Benigno (0.07)	VUS	VUS	NR	LB	Padre	PM2, BP4	VUS	
	<i>MTOR</i>	c.1985T>C	p.Val662Ala	Het	0.0115%	NR	Probablemente deletéreo (25.5)	NA	NA	NA	Incierto (0.019)	Deletéreo (1)	NA	Incierto (5.47)	Benigno (1.97)	Incierto (0.54)	Benigno (0.37)	B	VUS	NR	LB	Padre	PM2, PP2, BP6	B	
E8	<i>ZNF335</i>	c.3209C>G	p.Ser1070*	Het	NR	NR	Patogénico (48)	NA	NA	NA	NA	Deletéreo (1)	NA	Incierto (4.82)	NA	NA	NA	P	P	NR	P	Hermano	PVS1, PM2, PP5	P	
	<i>PLEKHG2</i>	c.2711C>G	p.Pro904Arg	Het	0.0058%	NR	Probablemente benigno (23.3)	NA	NA	NA	Deletéreo (0)	Deletéreo (1)	NA	Incierto (3.9)	Patogénico moderado (2.79)	Incierto (0.37)	Benigno (0.44)	VUS	VUS	NR	LB	Hermano	PM2	VUS	
	<i>PLEKHG2</i>	c.331G>A	p.Val111Met	Het	0.0058%	NR	Probablemente benigno (23.3)	NA	NA	NA	Deletéreo (0)	Deletéreo (1)	NA	Incierto (3.9)	Incierto (2.16)	Incierto (0.46)	Benigno (0.44)	VUS	VUS	NR	LB	Madre	PM2	VUS	
E9	<i>TSC2</i>	c.4309_4312del	p.Ser1437Glyfs*38	Het	NR	NR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P	P	NR	P	NA	PVS1, PM2, PP5	P	
E10	<i>MBD5</i>	c.779C>A	p.Ala290Asp	Het	0.0164%	0.0008%	Probablemente benigno (16.54)	NA	NA	NA	Incierto (0.002)	Deletéreo (1)	Incierto (0.82)	Incierto (5.16)	Neutral (0)	Benigno (0.25)	Benigno (0.1)	VUS	VUS	NR	LB	Madre	PM2	LB	
	<i>SCN5A</i>	c.3604G>A	p.Glu1202Lys	Het	0.1381%	0.01%	Probablemente benigno (14.06)	NA	NA	NA	Benigno (0.278)	Benigno (0)	Benigno (0.11)	Incierto (3.76)	Benigno (1.735)	Incierto (0.31)	Deletéreo (0.78)	LB	VUS	NR	LB	Madre	PM2, PM1, BP6	LB	
E11	<i>BTBD</i>	c.526G>T	p.Lys176Asn	Het	0.734%	0.0025%	Probablemente deletéreo (37)	NA	NA	NA	Incierto (0.008)	Deletéreo (1)	Deletéreo (1)	Benigno (1.72)	Patogénico (3.61)	Incierto (0.63)	Deletéreo (0.81)	P	P	P	P	NA	PP5, PM2, PM1, PP2	P	
	<i>ELOVL1</i>	c.142C>T	p.Arg48Cys	Het	0.0203%	0.0067%	Probablemente deletéreo (31)	NA	NA	NA	Deletéreo (0)	Deletéreo (1)	Incierto (0.98)	Incierto (5.95)	Patogénico Moderado (3.55)	Incierto (0.31)	Benigno (0.25)	VUS	VUS	NR	B	NA	BS1, BS2, BP1, PP3	LB	
	<i>FH</i>	c.850A>G	p.Asn284Asp	Het	0.0029%	NR	Probablemente deletéreo (40)	NA	NA	NA	Deletéreo (0)	Deletéreo (1)	NA	Incierto (5.76)	Patogénico Moderado (4.095)	Deletéreo moderado (0.87)	Deletéreo (0.99)	VUS	LP	NR	LP	NA	PP3, PP2, PM1, PM2	LP	
	<i>IDH2</i>	c.295T>C	p.Ile98Thr	Het	0.0173%	0.0033%	Probablemente deletéreo (29.8)	NA	NA	NA	Incierto (0.004)	Deletéreo (1)	Incierto (0.77)	Incierto 84.6	Incierto (2.43)	Incierto (0.34)	Benigno (0.34)	VUS	VUS	NR	B	NA	BS1, BS2, BP4	B	
	<i>MECP2</i>	c.377+4A>G	Intrónica	Het	NR	NR	NA	Deletéreo (0.96)	Deletéreo (0.99)	Deletéreo (0.7)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NR	VUS	NR	VUS	NA	PM2, PP3	VUS
E12	<i>ATP8A2</i>	c.1993G>A	p.Glu65Lys	Het	0.0141%	0.0025%	Probablemente deletéreo (37)	NA	NA	NA	Incierto (0.004)	Deletéreo (1)	Incierto (0.86)	NA	NA	NA	Deletéreo soporte (0.72)	Deletéreo bajo (0.7)	VUS	VUS	NR	VUS	NA	PM2, PP3, BP1	VUS
	<i>ATP8A2</i>	c.2951A>C	p.Glu984Ala	Het	0.0113%	0.0025%	Probablemente benigno (24)	NA	NA	NA	Benigno moderado (0.71)	Deletéreo (1)	Benigno (0.025)	Incierto (5.64)	NA	Benigno (0.24)	Benigno (0.08)	LB	VUS	NR	LB	NA	BP4, BP1, PM2	VUS	
E13	<i>SETD1A</i>	c.4582-2_4582-1del	Intrónica	Het	0.0101%	0.0017%	NA	Deletéreo (1)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	LP	P	NR	P	NA	PVS1, PP5, PM2	P	

Het=Heterocigosis, NR= No reportada, NA= No aplica, P= Patogénica, LP= Probablemente patogénica, VUS= Significado incierto, LB= Probablemente benigna, B= Benigna

## Anexo 2. Descripción de los casos

### Caso E1

El cuadro electroclínico del caso corresponde a una encefalopatía epiléptica, con presencia de espasmos epilépticos en donde se presenta flexión de ambas extremidades, lagrimeo y periodo postictal con somnolencia, en el EEG con presencia de ondas lentas de alto voltaje con frecuencia delta de 2 a 3 Hz, característico de un ritmo de fondo encefalopático, además de grafoelementos de punta onda lenta, ondas agudas y ondas lentas en regiones frontocentrales bilaterales de predominio izquierdo; en estudio de imagen no se encontraron alteraciones estructurales. Aunado a lo descrito, el caso E1 presenta ataxia-temblor.

Variante genética clasificada como patogénica en heterocigosis en el gen *STXBPI*, el cual codifica para la proteína de unión a syntaxina 1 (STXBP1), cuyo funcionamiento normal es fundamental para la liberación de neurotransmisores en la sinapsis y esencial para la supervivencia neuronal (Stamberger et al., 2022), la variante presente c.1359+1G>C en estado de heterocigosis no se ha descrito previamente en pacientes con trastornos relacionados a *STXBPI*.

Las encefalopatías asociadas a *STXBPI* tienen un amplio espectro fenotípico, en donde se describen síndromes electroclínicos específicos como síndrome de West, Ohtahara, Rett atípico, entre otros (Xian et al., 2022), además discapacidad intelectual en un 88% de los pacientes, epilepsia de inicio en las primeras 6 semanas de vida en un 85%, siendo el tipo de crisis epiléptica más frecuente el espasmo epiléptico, y alteraciones motoras en las que se incluye ataxia, hipotonía, distonía, temblor, espasticidad y discinesia (Abramov et al., 2021).

A pesar de que la variante genética del caso E1 no se había descrito, comparándola con las características clínicas de las encefalopatías asociadas a *STXBPI*, presenta un cuadro clínico ya descrito en estos pacientes, sin embargo, la descripción de este contribuyó a la modificación del tratamiento, incluyendo levetiracetam en su manejo, el cual se ha postulado como un modulador de la liberación de vesículas sinápticas (Stamberger et al., 2017).

### Caso E2

El cuadro electroclínico corresponde a una encefalopatía epiléptica de inició a los 7 meses de edad, presenta dos tipos de crisis epilépticas, la primera de ellas de ausencia con fijación de la mirada con duración de 2 a 5 minutos y las segundas tónico-clónicas en donde presenta supravversión de

la mirada hacia el lado derecho, con posterior movimiento de brazo derecho seguido del izquierdo con generalización de una duración de 30 a 60 segundos, en el EEG con presencia de enlentecimiento para regiones anteriores y actividad lenta epileptiforme de ondas lentas para región frontal bilateral, por último, en el estudio de resonancia magnética de cerebro no se encontraron alteraciones estructurales.

Variante patogénica en heterocigosis en el gen *SCN1A*, el cual está ubicado en el locus 2q24.3 y codifica la subunidad alfa 1 del canal de sodio dependiente de voltaje Nav1.1, una proteína de 2000 aminoácidos y que exhibe una expresión específica en interneuronas (Chen et al., 2022). Los canales de sodio dependientes de voltaje desempeñan un papel esencial en la función neurológica normal, especialmente en el inicio y la propagación del potencial de acción. Hasta la fecha, se han encontrado y confirmado nueve subunidades  $\alpha$  de los canales de sodio (Nav1.1 – Nav1.9) (Ding et al., 2021). La variante c.5079dupG, no cuenta con entrada en Clinvar y no se ha relacionado en pacientes con epilepsia relacionada a *SCN1A* previamente.

Las variantes de *SCN1A* provocan una disfunción del canal de sodio que inicia y propaga los potenciales de acción neuronal, provocando así epilepsia. Tiene un patrón de herencia autosómico dominante con penetrancia incompleta. Sus variantes patogénicas causan una amplia gama de fenotipos, que van desde las crisis febriles simples leves hasta epilepsia mioclónica grave en la infancia, o DEEs de aparición temprana (Chen et al., 2022). Acorde a lo descrito en el paciente el fenotipo electroclínico corresponde a un síndrome de Dravet, lo cual se apoya usando el modelo predictor de epilepsias relacionadas a *SCN1A*, desarrollado por Brunklaus, et al. (2022) (<https://scn1a-prediction-model.broadinstitute.org/>), en el cual se observa una probabilidad del 96.02% de ser este síndrome epiléptico.

Con el análisis del genotipo-fenotipo se dieron recomendaciones en el tratamiento acorde a lo descrito en la literatura, donde el uso de clobazam y valproato, han mostrado los mejores resultados en el manejo de esta patología, así como evitar el uso de carbamazepina, oxcarbazepina, lacosamida, lamotrigina, vigabatrina, gabapentina y pregabalina (Strzelczyk & Schubert-Bast, 2022).

### Caso E3

El cuadro electroclínico del paciente corresponde a una encefalopatía epiléptica de inicio en la etapa neonatal, presenta dos tipo de crisis epilépticas, la primera con desconexión del medio y

supraversión de la mirada con duración de 5 segundos, el segundo tipo con versión ocular hacia la izquierda y versión cefálica a la derecha con postura tónica en flexión de las extremidades superiores y en extensión de las extremidades inferiores de 8 segundos de duración, la evolución electroencefalográfica que presentó fue la siguiente: en la primer semana de vida con un patrón de brote-supresión, a los 9 meses de vida con hipsarritmia, y a los 3 años con brotes de onda delta de hasta 210  $\mu$ V en hemisferio izquierdo, que conduce a lado derecho, actividad punta, onda aguda, punta onda lenta en región central C3, F3, T3, sugerente de daño cortico-subcortical; en el estudio de resonancia magnética de cerebro con aumento del espacio subaracnoideo en forma generalizada con datos de atrofia cortico-subcortical generalizada, con aumento del tamaño de los ventrículos en forma generalizada y simétrica con datos de hidrocefalia ex vacuo y retraso en el patrón de mielinización para la edad.

Dos variantes patogénicas en heterocigoto compuesto en el gen *GLDC*, el cual se encuentra localizado en el locus 9p24.1, y codifica para la glicina descarboxilasa (proteína P), una enzima que cataliza la escisión de la glicina, el primer paso del sistema de escisión mitocondrial de la glicina (GCS), el catabolismo de la glicina por parte del GCS es un proceso metabólico esencial. La degradación de la glicina alimenta el metabolismo del folato de un carbono mediante la formación de 5,10-metilentetrahidrofolato, que a su vez se utiliza para sintetizar nucleótidos y proteínas (Farris et al., 2020). La variante c.1381C>T se encontró reportada en bases de datos y relacionada a pacientes con encefalopatía secundaria a hiperglicinemia no cetósica y la variante c.2108delA no había sido reportada previamente en pacientes con esta patología.

Correlacionando el fenotipo del paciente con las variantes genéticas, tenemos que ambas variantes c.1381C>T y c.2108delA conducen a codón de paro prematuro, lo que por su localización afectan el sitio activo de la enzima Lys754 (Farris et al., 2020), con lo que aún sin tener la correlación con la medición de la actividad enzimática, se puede concluir que no presentaría ninguna actividad enzimática, lo que concuerda con la severidad de la patología en el paciente a pesar del manejo farmacológico que lleva.

#### Caso E9

El fenotipo electroclínico de la paciente corresponde a una encefalopatía epiléptica con inicio en la etapa neonatal, presencia de múltiples crisis epilépticas tónico-clónicas, con actividad

epileptiforme en el EEG y aparentes quistes periventriculares en la resonancia magnética de cerebro, aunado a una discapacidad intelectual severa y espasticidad de extremidades.

Variante genética patogénica en heterocigosis en el gen *TSC2*, este gen con locus 16p13.3, codifica para la proteína tuberina o TSC2, que junto a las proteínas TSC1 y TBC1D7 forman un complejo heterotrimérico (complejo de proteínas TSC), que se activa en respuesta a la disminución energética de la célula mediante AMPK, este complejo de proteínas TSC, actúa como GTPasa de RHEB, una pequeña proteína G, inactivándola, resultando en la inhibición de mTORC1, uno de los dos complejos multiméricos de la vía mTOR (Salussolia et al., 2019; Madigan et al., 2018). La variante c.4309\_4312del, no encontrada en bases de datos y previamente no reportada en trastornos relacionados a *TSC2*.

Las variantes probablemente patogénicas o patogénicas en *TSC2*, son causantes de complejo esclerosis tuberosa (CET), el cual es un trastorno genético autosómico dominante con compromiso a múltiples órganos y sistemas (Salussolia et al., 2019), siendo una de las manifestaciones más frecuente la epilepsia en hasta el 85% de los pacientes, esta presenta una amplia heterogeneidad, en donde se puede presentar crisis epilépticas focales (67,5 %), espasmos infantiles (38,9 %), focales a bilaterales tónico-clónicas, atónicas, tónicas y atípicas, ausencia y mioclónicas (Singh et al., 2023). Si bien la semiología y los hallazgos electroencefalográficos en el paciente no están bien descritos, concuerda con la presentación clínica de esta patología, con esto, se comentó la importancia del tratamiento con vigabatrina, un bloqueador irreversible de la GABA transaminasa, dado su papel como ASM en esta patología (Singh et al., 2023).

### Caso E13

El paciente presenta un cuadro electroclínico con crisis epilépticas tónico-clónicas generalizadas de 45-60 segundos de duración, en el EEG con actividad irritativa generalizada formada por ondas agudas y puntas de bajo voltaje, sobre ritmo de base en sueño normal, lo cual habla de una alteración cortical difusa con elementos paroxísticos generalizados y el estudio de resonancia magnética de cerebro sin alteraciones. En la exploración física con dismorfias faciales menores.

Variante genética patogénica en heterocigosis en el gen *SETD1A*, este gen con locus 16p11.2, codifica para H3K4me1/2/3 metiltransferasa, un remodelador de la cromatina que influye en la expresión génica mediante la modulación de las marcas de mono-, di- y trimetilación en la histona-H3-lisina-4 (H3K4me1/2/3). Se describe que la metilación de H3K4 produce activación

transcripcional, con sus formas mono, di y trimetiladas enriquecidas diferencialmente en promotores o potenciadores. El papel del desarrollo neurológico asociada con esta metiltransferasa, SETD1A, se ha visto con su cooperación con el regulador del ciclo celular de histonas (HIRA), un regulador epigenético implicado en la neurogénesis. Juntos, estos dos reguladores aumentan H3K4me3, lo que lleva a un aumento de  $\beta$ -catenina, que es un componente clave de la vía canónica Wnt/ $\beta$ -catenina. La señalización de Wnt/ $\beta$ -catenina desempeña un papel importante en la promoción de la proliferación de células madre neurales al tiempo que inhibe la diferenciación en neuronas maduras. (Wang et al., 2021). La variante intrónica c.4582-2\_4582-1del, previamente se ha descrito en casos de trastornos relacionados con *SETD1A*.

El espectro fenotípico asociado a *SETD1A* incluye trastornos neuropsiquiátricos, del neurodesarrollo y epilepsia de inicio temprano, comparando estos con el caso E13, tenemos que la variante c.4582-2\_4582-1del ha sido descrita en múltiples casos relacionados con esquizofrenia y en un caso relacionado con epilepsia y esquizofrenia, sin embargo, no se detallan las características de las crisis epilépticas ni del patrón electroencefalográfico (Kummeling et al., 2021; Singh et al., 2016). Los casos descritos en la literatura asociados con epilepsia presentan características electroencefalográficas similares a la paciente con ondas agudas, puntas ondas lentas durante el sueño (Yu et al., 2019), con lo anterior y dado el fenotipo del caso concluimos que se trata de trastorno del neurodesarrollo con deterioro del habla y facies dismórfica asociado a *SETD1A*.