

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA

SILVESTRE FRENK FREUND



TUTORES:

DRA. ARACELI REYES

CUAYAHUITL

DR. MARIO ENRIQUE

RENDÓN MACÍAS

COOLABORADORAS:

DRA SANDRA

OROZCO SUÁREZ

DRA IRIS FERIA

ROMERO

**EXPRESION DE POLIMORFISMOS  
PARA EL GEN SCN1A EN PACIENTES  
PEDIÁTRICOS CON EPILEPSIA SEGÚN  
SU ETIOLOGÍA Y RESPUESTA  
TERAPÉUTICA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN NEUROLOGIA  
PEDIATRICA**

**Presenta:**

**Vannesa Janneth Ponce Navarrete**

**Residente de Neurología Pediátrica**

**CIUDAD DE MÉXICO JULIO 2017**

**Facultad de Medicina**





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.



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

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

Ciudad de México, a 25 de abril de 2017.

**DRA. SANDRA ADELA OROZCO SUÁREZ**

Investigador Principal

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas

UMAE Hospital de Especialidades, C.M.N. Siglo XXI

PRESENTE

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

Sin otro particular, le envío un saludo.

Atentamente

**DR. FABIO ABDEL SALAMANCA GOMEZ**

Representante Legal

Coordinación de Investigación en Salud

Centro Médico Nacional Siglo XXI

No. Registro COFEPRIS CI: 13 CI 09 015 213

No. Registro COFEPRIS CB: 13 CB 09 015 214

**DR. MARCOS GUTIÉRREZ DE LA BARRERA**

Presidente

Comité de Ética en Investigación

Coordinación de Investigación en Salud

Centro Médico Nacional Siglo XXI

SNN/RBB

ykgm

F-CNIC-2015-83

## ÍNDICE

1.RESUMEN	2
2.ANTECEDENTES	3
3.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
4. JUSTIFICACIÓN	10
5.OBJETIVOS	11
5.1 GENERAL	11
5.2 ESPECÍFICOS	11
6. HIPÓTESIS	12
7. MATERIAL Y MÉTODOS	12
7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	12
7.2 LUGAR DEL ESTUDIO	12
7.3 TIPO DE MUESTREO	12
7.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN	13
7.4.1.CRITERIOS DE INCLUSIÓN	13
7.4.2 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	13
8. VARIABLES	14
9. DESCRIPCION DEL ESTUDIO	16
10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17
11. ASPECTOS ÉTICOS	17
12. RECURSOS	18
13.RESULTADOS	19
14.DISCUSIÓN	28
15.CONCLUSIONES	34
16. ANEXOS	35
17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

## RESUMEN

**ANTECEDENTES:** La epilepsia continua siendo un importante campo de investigación, pues los elementos que la originan aún no están claramente determinados. La evaluación de mecanismos genéticos ha sido de gran relevancia en los últimos tiempos, ya que se ha sugerido que pueden explicar la fisiopatología de la epilepsia en algunos grupos de pacientes, así como el fenotipo y la respuesta al tratamiento. Las mutaciones en el gen SCN1A se han involucrado con epilepsias específicas. Estudios recientes han revelado interesantes polimorfismos a nivel de dicho gen y en algunos blancos terapéuticos, que proponen su asociación con farmacoresistencia.

**OBJETIVOS:** Determinar la expresividad de polimorfismos para el gen SCN1A en pacientes pediátricos con epilepsia según su etiología. Determinar la expresividad de polimorfismos para el gen SCN1A en pacientes pediátricos con epilepsia según su respuesta terapéutica.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio transversal analítico elaborado a partir de la determinación del estudio genético de secuenciación masiva del gen SCN1A en muestras de pacientes de ambos sexos con diagnóstico de epilepsia y edad entre 1 a 16 años, quienes acuden a la consulta externa de Neurología Pediátrica del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI.

**RESULTADOS:** Se estudiaron 70 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión 48% con epilepsia farmacoresistente y 52% con epilepsia controlada, la distribución por género y etiología fue muy homogénea. Se analizó la presencia de 16 polimorfismos del gen SCN1A observando un porcentaje significativamente mayor para el grupo de los pacientes farmacoresistentes de etiología desconocida comparados con los de epilepsia controlada, con un valor estadísticamente significativo ( $p.05-0.0005$ ) con valores de OR  $>2$  para 15 de los polimorfismos. (IC95%)

**CONCLUSIONES:** En la población pediátrica con epilepsia existen polimorfismos del gen SCN1A que son significativamente más frecuentes en pacientes con farmacoresistencia que en los pacientes con epilepsia controlada, particularmente en aquellos con epilepsia de causa desconocida.

## ANTECEDENTES

### EPILEPSIA

La epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común, afecta aproximadamente a 50 millones de personas en el mundo, con 2.4 millones de casos nuevos diagnosticados a nivel global cada año<sup>1</sup>. En América Latina y el Caribe tiene gran relevancia sanitaria y social, con una prevalencia promedio de 17.8 por 1000 habitantes. En México su prevalencia oscila de entre 1.8 y 2 % de la población en general, lo que representa más de un millón de pacientes<sup>2, 3,4</sup>.

La epilepsia tiene una distribución bimodal, siendo mayor en las dos primeras décadas de la vida, luego disminuye y vuelve a aumentar a partir de la sexta década de vida<sup>3, 4</sup>. Se considera que en más del 70 % de los casos la afección comienza en la infancia<sup>5</sup>. Aproximadamente uno de cada 150 niños es diagnosticado de epilepsia durante los primeros 10 años de vida, por lo que la tasa de incidencia más alta se observa en edad pediátrica<sup>6</sup>.

La clasificación actual de la International League Against Epilepsy (ILAE) define que un individuo tiene epilepsia cuando existe<sup>7-8</sup>:

- Al menos dos crisis no provocadas (o reflejas) que se producen con más de 24 horas de separación.
- Una crisis no provocada (o refleja) y una probabilidad de padecer nueva crisis durante los 10 años siguientes similar al riesgo general de recurrencia (al menos 60%) tras la aparición de dos episodios no provocados.
- Diagnóstico de un síndrome epiléptico

Prácticamente cualquier lesión en el sistema nervioso central puede causar una crisis epiléptica. A través del tiempo, se ha reconocido una serie de grupos etiológicos, con énfasis en aquellos que tienen implicaciones para el tratamiento. La clasificación de la ILAE ha cambiado varias veces en los últimos años. La última revisión propone seis distintas etiologías en el estudio del paciente epiléptico: estructural, genética, infecciosa, metabólica, inmune y de origen desconocido. Las causas de la epilepsia no son excluyentes, por lo que un mismo paciente coexistir con más de una etiología<sup>9</sup>.

Existen asociaciones bien reconocidas dentro de las epilepsias con etiología estructural. En éstas, los estudios de neuroimagen junto con la evaluación electroclínica, permiten realizar una inferencia razonable sobre la anomalía en la imagen, como causa de epilepsia en un paciente. Por otra parte existe un importante cuerpo de conocimiento generado desde la genética, que promete acrecentarse en los próximos años, alimentando el área de las epilepsias pediátricas a través de hallazgos relevantes para la comprensión del comportamiento clínico y terapéutico de los pacientes<sup>9-10</sup>.

Se sabe que, la mayoría de los niños con epilepsia van a lograr un buen control de crisis con fármacos antiepilépticos (FAE), pero algunos son refractarios a pesar de numerosos medicamentos. Las estimaciones de la incidencia de epilepsia refractaria varían entre el 6 y el 23%<sup>12,13</sup>. Ningún factor de riesgo aislado ha demostrado por si solo ser necesario para ocasionar resistencia a fármacos<sup>11, 12</sup>.

A nivel celular son varias las causas de epilepsia refractaria. De acuerdo a Kwan y Brodie se puede asociar con una organización anormal de los circuitos neuronales, alteración en los receptores de diversos neurotransmisores,

patologías en los canales iónicos, autoinmunidad reactiva y penetración alterada de los fármacos antiepilépticos en el foco epiléptico por posibles afecciones a nivel de la barrera hematoencefálica<sup>13</sup>.

El estudio de las variaciones determinadas genéticamente y su asociación con la respuesta farmacológica se define como farmacogenética. Vogel, en 1959, fue el primero en proponer el término, aunque ya desde 1909 Garrod<sup>14</sup> había propuesto que las variaciones en el metabolismo de los fármacos, eran características heredables.

### **Variaciones polimórficas en pacientes epilépticos**

Los polimorfismos genéticos, son variaciones en el genoma que inicialmente aparecen como mutaciones en algunas personas, pero son compatibles con la vida, son transmitidos a la descendencia y se observa una frecuencia de población de 1 en 1000<sup>15</sup>. Polimorfismos relevantes pueden potencialmente alterar la absorción del fármaco, su disposición y sitios de acción.

Hasta el momento, los datos más interesantes se han acumulado para los canales sodio dependiente de voltaje, que son el objetivo principal de una serie de fármacos como la carbamazepina, fenitoína o lamotrigina<sup>12</sup>. Los canales iónicos son proteínas de membrana que forman poros. Sus funciones incluyen establecer potenciales de acción y mantener la homeostasis controlando el flujo iónico, atravesando la membrana celular, gestionando el flujo iónico a través de las células y la regulación del volumen celular. Dichas funciones son esenciales para la excitabilidad de la neurona, por lo que, los iones juegan un papel importante en la epileptogénesis.



La asociación entre los genes del canal iónico y epilepsia puede proporcionar una visión de los mecanismos subyacentes a la epilepsia. Las variaciones genéticas en los canales de sodio, han recibido más atención debido a que se considera que pueden exhibir diferentes propiedades electrofisiológicas en pacientes con epilepsia farmacorresistente en comparación con los pacientes sensibles a tratamiento<sup>14</sup>.

Remy y colaboradores contribuyeron a este campo de estudio en 2003 en un trabajo que evaluó la respuesta a carbamazepina en neuronas hipocampales. Observaron que la farmacorresistencia en los pacientes con esclerosis mesial temporal, está vinculada con alteraciones en la estructura de los canales de sodio que origina pérdida de la sensibilidad a los fármacos<sup>16</sup>.

El hecho de que las propiedades funcionales de los canales iónicos pueden ser regulados dinámicamente a través de mecanismos genéticos está realmente bien establecida. El ejemplo más conocido es probablemente el empalme alternativo evolutivamente bien conservado de los exones que codifican los sensores de voltaje de los canales iónicos<sup>17</sup>. Las regiones del sensor de voltaje determinan las propiedades de poro de los canales de sodio. Se piensa que influyen en la interacción con los antiepilépticos clásicos que actúan a nivel de canales de sodio, entre ellos carbamazepina y fenitoína<sup>18</sup>.

En el 2000, Escayg y colaboradores<sup>19</sup>, analizaron la secuencia de codificación del gen SCN1A en el ser humano determinando la presencia de 26 exones, siendo este último el que codifica principalmente el segmento 5 y 6 del dominio IV y el extremo carboxiterminal de la subunidad alfa del canal de sodio. La subunidad alfa 1 se encuentra codificada en el gen SCN1A en el locus 2q24.

El estudio del gen SCN1A ha reportado datos de interés, ya que es uno de los blancos terapéuticos más importantes en la epilepsia, se han encontrado múltiples mutaciones asociadas con una actividad anormal del canal iónico en la epilepsia mioclónica severa de la infancia y en las crisis febriles secundariamente generalizadas; las mutaciones localizadas en las secuencias que codifican el sensor de voltaje y el poro iónico, se han correlacionado con un fenotipo severo y de difícil control<sup>20</sup>.

En 2005, Tate y colaboradores<sup>21</sup> asociaron retrospectivamente las dosis máximas de carbamazepina y fenitoína, con variaciones del gen SCN1A en 425 pacientes epilépticos procedentes de Reino Unido. Se observó que la presencia de alelos A mutantes, en interrupción del empalme se correlacionó con dosis más altas de fármacos.

También existen dos estudios no aleatorizados y no controlados en los cuales no se han correlacionado los genotipos con la necesidad de dosis más altas de los fármacos o farmacorresistencia <sup>22,23</sup>. Recientemente Zhou y colaboradores estudiaron en 391 pacientes epilépticos que presentaban polimorfismos en los genes ABCB1, ABCC2 y SCN1A, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en las secuencias alélicas o fenotípicas entre los pacientes farmacorresistentes y farmacosensibles<sup>24</sup>.

En nuestro país en 2013 se realizó un estudio por Jimenez y colaboradores<sup>25</sup>, analizaron el gen de la subunidad alfa de canal de sodio dependiente de voltaje en 5 pacientes pediátricos con epilepsia refractaria tratados en Centro Médico Nacional 20 de noviembre e identificaron una mutación heterocigota no conservadora en el codón 1826, que origina una

alteración en la estructura tridimensional de la subunidad alfa de la proteína y puede vincularse con la resistencia farmacológica.

Por otra parte, en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Neurológicas, del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, un grupo multidisciplinario enfocado al estudio de la epilepsia farmacorresistente, ha iniciado la genotipificación a gran escala de polimorfismos y el secuenciamiento paralelo en masa. Se han realizado estudios en los que se han encontrado polimorfismos como nuevas variaciones genéticas en: ABCB1, ABCC2, CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4 y SCN1A, en una población de pacientes con epilepsia farmacorresistente que fueron rigurosamente seleccionados<sup>26,27</sup>.

De tal modo, que la fisiopatología y mecanismos de la epilepsia de causa desconocida y su respuesta al tratamiento sigue siendo un campo amplio de estudio, pues los estudios realizados hasta el momento, si bien han ampliado el panorama respecto a la participación genética en la etiología y respuesta al manejo, son insuficientes para establecer asociaciones precisas. Por otra parte, en nuestro país no existe hasta el momento información suficiente para aplicarse en pacientes pediátricos con epilepsia.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se estima que a nivel mundial 10.5 millones de niños menores de 15 años cursan con epilepsia, lo que representa casi 25% de la población global con epilepsia. En México se ha calculado que afecta a 1.8 millones de personas, siendo de éstas más de 70% niños. En cada crisis en el cerebro de un paciente con epilepsia se puede producir daño y muerte neuronal, que a largo plazo se manifiesta en un déficit cognitivo, alteraciones en la memoria, discapacidad en el aprendizaje y retraso mental. Su etiología sigue siendo tema de estudio.

La mayoría de la consulta externa de neurología pediátrica se centra en la atención de niños con epilepsia, el 30% de ellos con epilepsia farmacorresistente, un porcentaje similar con epilepsia de origen desconocido cuya etiología se presume ser de tipo genético. El involucro de mutaciones principalmente en el gen SCN1A se ha relacionado con algunos tipos de epilepsia y polimorfismos del mismo gen se han asociado con farmacorresistencia y eje de tratamiento antiepiléptico.

De lo anterior se deriva la siguiente pregunta de investigación:

**¿Cuál es la expresión de polimorfismos para el gen SCN1A en pacientes pediátricos con epilepsia según su etiología y respuesta terapéutica?**

## JUSTIFICACIÓN

Actualmente la epilepsia de origen desconocido continua siendo un reto en el campo de investigación, pues su etiología aún no está claramente determinados. El acceso a recursos que permiten evaluar la participación de mecanismos genéticos ha sido de gran relevancia en los últimos tiempos, pues existen múltiples propuestas respecto a componentes que pueden explicar la fisiopatología de la epilepsia en algunos grupos de pacientes, así como el fenotipo y la respuesta al tratamiento. Particularmente, las mutaciones en el gen SCN1A se han involucrado con epilepsias específicas. Estudios recientes han revelado interesantes polimorfismos a nivel de dicho gen y en algunos blancos terapéuticos, que proponen su asociación con farmacorresistencia.

En México no se dispone de información respecto a pacientes epilépticos con polimorfismos en el gen SCN1A, por lo que determinar la expresión de polimorfismos en el gen SCN1A podría ser el punto de partida establecer las causas de epilepsia y la respuesta a tratamiento antiepiléptico en pacientes pediátricos.

## **OBJETIVOS GENERALES**

- Determinar la expresividad de polimorfismos para el gen SCN1A en pacientes pediátricos con epilepsia según su etiología
- Determinar la expresividad de polimorfismos para el gen SCN1A en pacientes pediátricos con epilepsia según su respuesta terapéutica.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Describir los tipos de epilepsia en pacientes pediátricos atendidos en la consulta externa de neurología pediátrica
- Describir la etiología de la epilepsia en pacientes pediátricos atendidos en la consulta externa de neurología pediátrica.
- Describir la respuesta terapéutica en pacientes pediátricos con epilepsia atendidos en la consulta externa de neurología pediátrica.
- Determinar los polimorfismos del gen SCN1A en los pacientes pediátricos con epilepsia atendidos en la consulta externa de neurología pediátrica.
- Analizar la distribución de los polimorfismos según el tipo de epilepsia y la respuesta al tratamiento
- Determinar la relación entre la expresión de polimorfismos del gen SCN1A de pacientes pediátricos con epilepsia y su etiología
- Determinar la relación entre la expresión de polimorfismos del gen SCN1A de pacientes pediátricos con epilepsia y la respuesta terapéutica.

## **HIPÓTESIS**

- La expresividad de los polimorfismos en el gen SCN1A se asocia con mayor frecuencia a pacientes pediátricos con epilepsia de origen desconocido.
- La expresividad de los polimorfismos en el gen SCN1A se asocia con mayor frecuencia a pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Diseño de estudio: Transversal analítico**

- a) Por el control de la maniobra es analítico
- b) Por la recolección de datos es prolectivo
- c) Por la medición del fenómeno es retrospectivo y transversal

### **Lugar de estudio**

Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, servicio de neurología pediátrica. Reclutados de octubre de 2015 a marzo del 2017

### **Universo de trabajo**

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

### **Tipo de muestreo**

No probabilístico por conveniencia, de casos consecutivos.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **Criterios de inclusión**

- Sexo: Masculino y femenino
- Edad: 6 meses a 16 años 11 meses
- Pacientes cuyos tutores hayan aceptado el análisis de su muestra previamente tomada.
- Con diagnóstico establecido de epilepsia

### **Criterios de exclusión**

- Expediente incompleto.
- Muestra inadecuada.



## VARIABLES

- **Edad.**

Tipo: Cuantitativa continua

Definición operacional. Periodo de tiempo desde el nacimiento hasta el momento de la toma de muestra.

Escala de medición: Años

- **Género.**

Definición operacional: Fenotipo sexual al que corresponde un individuo

Tipo: Cualitativa nominal

Escala de medición: Masculino/Femenino

- **Número de crisis**

Definición operacional: Frecuencia con que se presentan las crisis epilépticas en un individuo.

Tipo: Cuantitativa discreta

Escala de medición: Número de crisis por día.

- **Número de fármacos**

Definición operacional: Cantidad de fármacos antiepilépticos usados para el tratamiento de las crisis convulsivas

Tipo: Cuantitativa discreta

Escala de medición: 1, 2, 3,4...

- **Tipo de crisis**

Definición operacional: Características clínicas de la manifestación ictal descritas según la nomenclatura internacional por su forma de inicio e involucro o ausencia de actividad motora.

Tipo: Cualitativa nominal

Escala: De acuerdo a la ILAE ANEXO (1)

- **Síndrome electroclínico**

Tipo: Cualitativa nominal

Definición operacional: Grupo de entidades clínicas que se identifican de forma fiable por un conjunto de características electroclínicas

Escala: Presente/ Ausente

- **Epilepsia farmacorresistente**

Tipo: Cualitativa dicotómica

Definición operacional: Falla a dos esquemas de antiepilépticos tolerados y elegidos en forma correcta para alcanzar la libertad de crisis en mono o politerapia

Escala: SI/NO

- **Epilepsia controlada**

Tipo: Cualitativa dicotómica

Definición operacional: Aquella que con tratamiento farmacológico logra periodos indistintos libres de crisis.

Escala: SI/NO

- **Polimorfismo del gen SCN1A**

Tipo: Cualitativa nominal

Definición operacional: Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen SCAN1.

Escala: Presente/Ausente.

Se revisaron los expedientes electrónicos y los datos estudios genéticos de secuenciación masiva en 70 pacientes pediátricos con epilepsia, atendidos en el servicio de Neurología Pediátrica.

## DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Los pacientes incluidos en el estudio participaron en dos estudios previos: “Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente” y “Comparación de los niveles sérico de interleucinas (IL 1beta, IL 6 y TNF-alfa) entre subgrupos de pacientes pediátricos mexicanos con epilepsia farmacorresistente y controlada”, éste último realizado en el año 2015. Las muestras séricas tomadas a los pacientes, se utilizaron para ser analizadas en búsqueda de polimorfismos del gen SCN1A por medio de secuenciación masiva. Se elaboró también una hoja de recolección de datos (Anexo 2), en la que se concentraron los datos clínicos de los pacientes. Para posteriormente crear una base de datos.

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

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

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

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

## **ASPECTOS ÉTICOS**

Este estudio se realizó dentro de las normas establecidas en la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos consignados en el Título VI en materia de investigación para la Salud, en el Artículo 17 del Título 2, donde se establece que fue una investigación de riesgo mínimo ya que únicamente empleo métodos de investigación documental. Toda la información fue colectada y resguardada de forma confidencial. El presente protocolo es un brazo del protocolo de investigación con título: "Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente". Fue sometido por medio de enmienda a evaluación por parte del Comité Nacional de Investigación Científica con número de registro: R2015-785-088.

## **RECURSOS**

Para la realización del estudio participó una residente de segundo año de la especialidad de neurología pediátrica.

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

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

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

No se requirió financiamiento para la elaboración del presente estudio.

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

## RESULTADOS

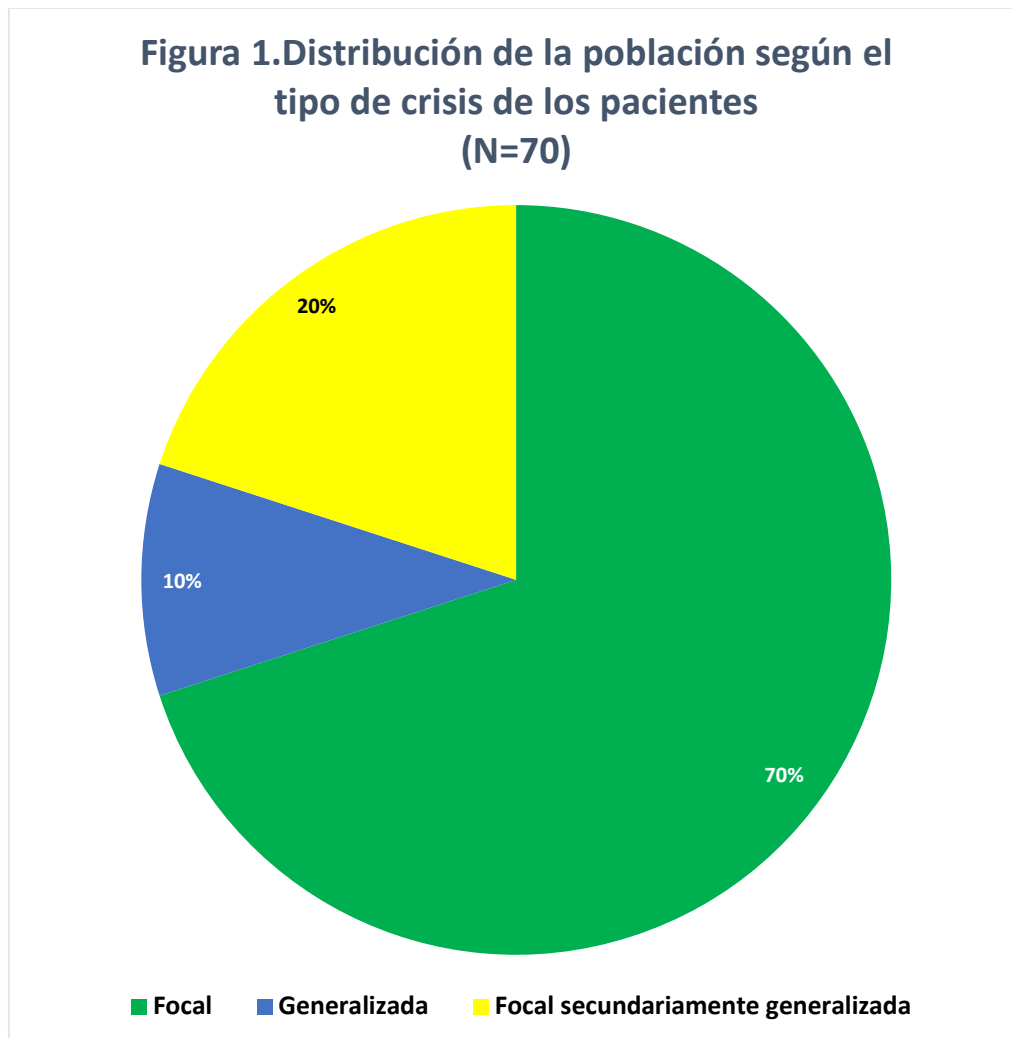
Se incluyeron un total de 70 pacientes pediátricos epilépticos, de los cuales el 48% (34/70) fueron farmacorresistentes. Este grupo no fue diferente con respecto a la distribución de género y edad de los epilépticos controlados, Cuadro I. Es de remarcar que en los pacientes con epilepsia farmacorresistente la mediana de edad fue hacia el grupo escolar y en los controlados hacia los adolescentes. Tampoco encontramos diferencias en la distribución de los casos de causa desconocida contra sintomática entre los grupos, aunque hubo menos casos de causa desconocida entre los resistentes.

**Cuadro I. Características de los pacientes pediátricos con epilepsia resistentes y no a tratamiento (n=70).**

<i>Dato</i>	Epilepsia resistente N=34		Epilepsia controlada N=36		Valor de p*
	N	%	N	%	
	<b><i>Género</i></b>				
Masculino	20	55.6	14	41.2	0.24
Femenino	16	44.4	20	58.8	
<b><i>Edad en años</i></b>					
Mediana (min-max)	11.5	(1 a 16)	14	(3 a 16)	0.14
<b><i>Etiología</i></b>					
Causa desconocida	17	47.2	18	52.9	0.81
Sintomática	19	52.8	16	47.1	

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

Es de comentar que el tipo de crisis mostradas por los pacientes fueron predominantemente focales y algunas focales con generalización secundaria (90%); en proporción menor se encontraron las generalizadas (Figura 1). Solamente en el 11.4% tenía diagnóstico de un síndrome electroclínico de los siguientes: de West, de Lennox Gastaut, epilepsia Rolándica y epilepsia de ausencia.



Con relación a la frecuencia de presentación de las crisis epilépticas, un 44%(15) de los pacientes las padecieron diariamente, con frecuencias de una hasta 70. En los pacientes bajo control farmacológico, el tiempo libre de crisis estuvo entre los 8 meses a 10 años.

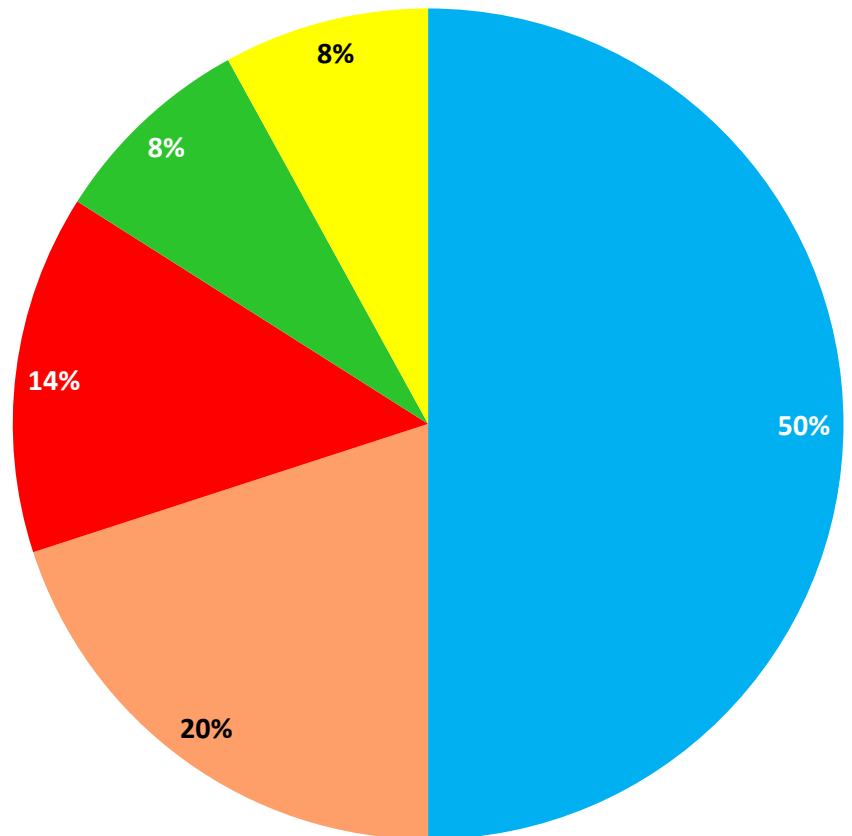
En cuanto al número de fármacos antiepilépticos en administración, se confirmó el mayor requerimiento para los pacientes con farmacorresistencia. En ellos el 85% requirieron tres o más. Esto contrasta con solo un fármaco en el 66.6% de los pacientes epilépticos controlados.

Referente a lo encontrado en los estudios de electroencefalograma, 55.7% de los pacientes aún manifestaban evidencia de actividad paroxística epiléptica focal; otro 20% actividad tanto paroxística focal como generalizada, y en un 17% el último estudio electroencefalograma se encontraba normal para la edad, bajo tratamiento antiepiléptico.

En cuanto a los hallazgos de neuroimagen, como se esperaba en el 83% de los pacientes con epilepsia sintomática encontramos una alteración estructural. De éstas, la atrofia cortico subcortical fue la más frecuentemente hasta en el 50% de los pacientes, seguida en un 20% de lesiones isquémicas (evidencia de infartos antiguos, áreas de encefalomalacia y gliosis); un 14% con áreas de displasia y otro 8% con alteraciones de la migración neuronal. Es de resaltar un 8% de pacientes con diagnóstico de epilepsia de lóbulo temporal con áreas de esclerosis mesial temporal (Figura 2).



**Figura 2. Distribución de la población estudiada según los hallazgos de neuroimagen**



■ Atrofia ■ Isquemia ■ Alteración migración ■ Displasias ■ EMT

### ***Polimorfismos y condición de respuesta terapéutica***

De los 16 polimorfismos estudiados del gen SCN1A encontramos asociación con la farmacorresistencia en 15 (Cuadro II), esto sin considerar si la epilepsia era sintomática o sin causa conocida. Los polimorfismos con mayor asociación fueron rs566839 y rs1461193 (OR>20), seguidos de rs4667859, rs2298771, rs6432860, rs7580482 y rs994399 (OR entre 10 y 20); después, rs1813502, rs2126152, rs6763132, rs6753355 (OR entre 5 a 9.9) y finalmente rs8191989, rs150570058, rs199507113 y rs10497275 (OR entre 2 y 4.9). El único polimorfismo no asociado fue el rs10198801. Con excepción de este último, la frecuencia de presentación fue por arriba del 30% para los asociados a farmacorresistencia. Por otro lado, ninguno de los polimorfismos estudiados tuvo una frecuencia superior al 45% en los pacientes con epilepsia controlada.

Al analizar el comportamiento de la presentación de los 16 polimorfismos del gen SCN1A con respecto a la etiología de la epilepsia (Cuadro III), se encontró que ninguno se asoció con un origen desconocido.

**Cuadro II. Comparación de polimorfismos del gen SCN1A en pacientes con epilepsia según su respuesta terapéutica.**

Polimorfismo	Pacientes Fármaco-resistentes N=36		Pacientes Fármaco-controlados N=34		OR (IC95%)	Valor de p*
	N	%	N	%		
rs10497275	19	52.8	10	29.4	<b>2.6 (1.01-7.2)</b>	<b>0.04</b>
rs150570058	13	36.1	4	11.8	<b>4.2 (1.2-14.7)</b>	<b>0.01</b>
rs8191989	16	44.4	5	14.7	<b>4.6 (1.4-14.7)</b>	<b>0.006</b>
rs199507113	12	33.3	5	14.7	<b>2.9 (0.9-9.4)</b>	<b>0.06</b>
rs10198801	6	16.7	4	11.8	1.2 (0.6-2.7)	0.40
rs6763132	15	41.7	3	8.8	<b>7.4 (1.9-28.7)</b>	<b>0.002</b>
rs1813502	31	86.1	15	44.1	<b>7.8 (2.5-25.1)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs4667859	33	91.7	13	38.2	<b>17.8 (4.5-69.9)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs2298771	33	91.7	15	44.1	<b>13.9 (3.6-54.4)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs2126152	31	86.1	15	44.1	<b>7.8 (2.5-25.1)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs6432860	33	91.7	16	47.1	<b>12.4 (3.2-48.2)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs6753355	30	83.3	15	44.1	<b>6.3 (2.1-19.2)</b>	<b>0.001</b>
rs7580482	32	88.9	15	44.1	<b>10.1 (2.9-35)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs1461193	34	94.4	15	44.1	<b>21.5 (4.4-104)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs994399	32	88.9	15	44.1	<b>10.1 (2.9-35)</b>	<b>&lt;0.001</b>
rs566839	34	94.4	15	44.1	<b>21.5 (4.4-104)</b>	<b>&lt;0.001</b>

\*Prueba exacta de Fisher 1 cola.

**Cuadro III. Comparación de polimorfismos del gen SCN1A en pacientes con epilepsia según su etiología.**

Polimorfismo	Pacientes Con causa desconocida N=35		Pacientes sintomáticos N=35		Valor de p*
	N	%	N	%	
rs10497275	11	31.4	18	51.4	0.07
rs150570058	9	25.7	8	22.9	0.50
rs8191989	8	22.9	13	37.1	0.14
rs199507113	8	22.9	9	25.7	0.50
rs10198801	4	11.4	6	17.1	0.36
rs6763132	10	28.6	8	22.9	0.39
rs1813502	22	62.9	24	68.6	0.40
rs4667859	23	65.7	23	65.7	0.59
rs2298771	22	62.9	26	74.3	0.22
rs2126152	23	65.7	23	65.7	0.59
rs6432860	24	68.6	25	71.4	0.50
rs6753355	21	60	24	68.6	0.30
rs7580482	22	62.9	25	71.4	0.30
rs1461193	23	65.7	26	74.3	0.30
rs994399	22	62.9	25	71.4	0.30
rs566839	23	65.7	26	74.3	0.30

\*Prueba exacta de Fisher 1 cola.

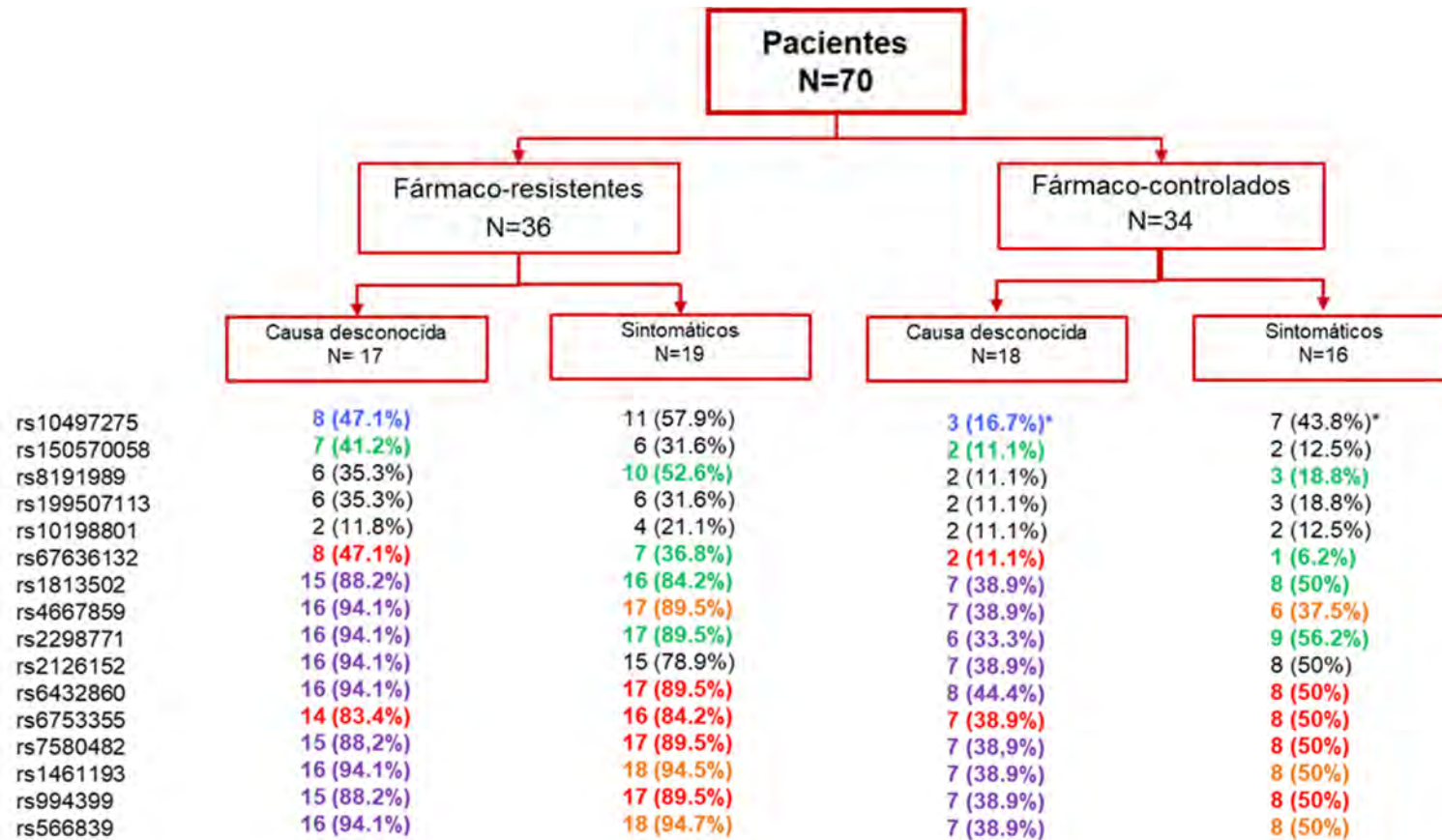


Figura 1. Distribución de los diferentes polimorfismos entre los pacientes con epilepsia resistente y no al tratamiento según la etiología de los mismos.

Prueba exacta de Fisher 1 colas: \*p=0.08; P=0.05, p<0.02, P<0.05, p<0.005, p<0.005

En el análisis de subgrupos los pacientes con epilepsia desconocida se mostraron diferencias estadísticamente significativas, ya que en el grupo de farmacorresistentes se encontró una mayor frecuencia de polimorfismos que en los farmacocontrolados. Lo anterior sugiere una asociación entre la presencia de polimorfismos y la farmacorresistencia; para el grupo de pacientes con epilepsia de causa desconocida. En el subgrupo de pacientes sintomáticos, no se encontraron diferencias significativas en relación a la presencia de polimorfismos, sin importar si fueron farmacorresistentes o farmacocontrolados (Figura 1).

## DISCUSIÓN

La epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común, las causas que la originan no son excluyentes, por lo que un mismo paciente coexistir con más de una etiología<sup>9</sup>. La mayoría de los niños con epilepsia van a lograr un buen control de crisis con fármacos antiepilépticos (FAE), pero algunos son refractarios a pesar de numerosos medicamentos.<sup>12,13</sup> Ningún factor de riesgo aislado ha demostrado por sí solo ser necesario para ocasionar resistencia a fármacos<sup>11, 12</sup>, sin embargo de acuerdo a Kwan y Brodie la farmacorresistencia se puede asociar con una organización anormal de los circuitos neuronales, alteración en los receptores de diversos neurotransmisores, patologías en los canales iónicos, autoinmunidad reactiva y penetración alterada de los fármacos antiepilépticos en el foco epiléptico por posibles afecciones a nivel de la barrera hematoencefálica<sup>13</sup>. Los factores genéticos que se han estudiado últimamente, son aquellas mutaciones en genes que codifican canales iónicos, principalmente para el gen SCN1A.

El presente estudio da a conocer, mediante una medición transversal en grupos homogéneos, los diferentes polimorfismos para el gen SCN1A, presentes en una población de pacientes pediátricos con epilepsia atendidos en el servicio de neurología pediátrica del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Se encontró evidencia a favor de nuestra hipótesis, por la existencia de un mayor porcentaje de polimorfismos en los pacientes farmacorresistentes comparados con los pacientes epilépticos controlados, particularmente en aquellos en los que la causa de la epilepsia era desconocida.

El gen SCN1A se expresa en alto nivel en sistema nervioso central, mientras que el canal de sodio NaV1.1, se encuentra predominantemente en el soma y las dendritas de las neuronas<sup>28</sup>. SCN1A es uno de los genes causantes de la epilepsia más importantes. Hasta la fecha se han reportado 1.257 mutaciones relacionadas con la epilepsia<sup>29</sup>. Principalmente en pacientes con antecedentes de convulsiones febriles (FS) y epilepsia mioclónica severa, en las que se encuentra el fenotipo más grave y se asocia frecuentemente con mutaciones destructivas o missense localizadas en la región del poro, que origina pérdida de la función del canal NaV1.1.

Por otra parte, la epilepsia generalizada con convulsiones febriles (GEFS) tiene la frecuencia más alta de mutaciones missense que son generalmente situadas fuera de la región de los poros, con cambios funcionales. Mientras que la epilepsia parcial con convulsiones febriles (PEFS), es un fenotipo intermedio en términos de severidad clínica. Los datos anteriores, sugieren que la pérdida de la función de NaV1.1 es la base primaria para las epilepsias con crisis febriles. Experimentos en ratones knock-out han demostrado que la pérdida de la función NaV1.1 perjudica las funciones inhibitorias en el cerebro y conduce a hiperexcitabilidad y epilepsia<sup>30</sup>.

De tal manera, que existen abundantes y profundas investigaciones que han correlacionado la presencia de mutaciones en los canales de sodio con fenotipos característicos en pacientes epilépticos. Más recientemente estudios farmacogenéticos han revelado que los polimorfismos genéticos en SCN1A y SCN2A influyen en la respuesta clínica a los fármacos<sup>30</sup>.



En los últimos años, se han buscado asociaciones entre la presencia de polimorfismos en el gen SCN1A y la respuesta terapéutica de los pacientes. Así en 2006 Tate<sup>22</sup> informó que un polimorfismo intrónico funcional de SCN1A (IVS5-91 rs3812718 G> A) se asociaba con dosis máximas de carbamazepina y fenitoína. Y para el 2008 un estudio japonés demostró una asociación significativa entre el genotipo SCN1A IVS5-91 AA y la epilepsia resistente a carbamazepina<sup>32</sup>.

Del mismo modo Angelopoulou<sup>33</sup> y colaboradores, mostró sólo asociación del polimorfismo SCN1A IVS5-91 rs3812718 G>A con la respuesta terapéutica en respondedores sin evidencia de un efecto sobre la epilepsia resistente a los fármacos.

Los europeos y chinos, tienen la mayor cantidad de estudios en poblaciones humanas para polimorfismos del gen SCN1A, los más estudiados hasta el momento son: rs3812718<sup>28</sup> y rs230416<sup>24</sup>. En el presente estudio se reportan varios polimorfismos, pero son distintos a los que se han estudiado en dichas poblaciones. Dentro de los analizados, únicamente los polimorfismos rs1813502 y rs6432860, se habían sugerido previamente como candidatos para explicar la farmacorresistencia en pacientes griegos con epilepsia, lo cual coincide con los hallazgos de esta investigación.<sup>31</sup>.

Cabe señalar que en los proyectos realizados hasta el momento, predomina la población adulta. Además, se han efectuado con fármacos que en los pacientes del presente estudio, se administran con poca frecuencia en nuestros días. Sin embargo, resulta interesante comentar que en los pacientes con epilepsia farmacorresistentes de esta investigación; el 50% tenía antecedente de haber

recibido tratamiento con fenitoína previamente, durante algún momento de su evolución. Y 44% actualmente tiene tratamiento con oxcarbazepina, que también tiene su sitio de acción a nivel de los canales de sodio.

Respecto a investigaciones realizadas en población pediátrica, en 2016 Abo<sup>34</sup> y colaboradores hicieron un estudio en pacientes con epilepsia en Egipto; en el cual asociaron al polimorfismo rs2298771 con el desarrollo de farmacorresistencia. Lo anterior, está de acuerdo con lo evidenciado en nuestro estudio, pues identificamos dicho polimorfismo en un 91.7% de los pacientes farmacorresistentes, comparado con un 44.1% de los pacientes epilépticos controlados, con una diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.001$  y un OR de 13.9 (IC 95%).

Si bien nuestro propósito no fue un polimorfismo en particular. Los hallazgos encontrados demuestran que efectivamente los pacientes farmacorresistentes tienen una frecuencia mayor de polimorfismos comparados con los pacientes con epilepsia controlada. Lo cual coincide con Ma y colaboradores<sup>28</sup>, que en 2012 hicieron una investigación en población epiléptica China, en la que sugirieron que los polimorfismos para el gen SCN1A podrían estar asociados con la farmacorresistencia, con un valor de  $p < 0.002$ .

Los polimorfismos que se presentaron en este estudio, sugieren una fuerte asociación con la farmacorresistencia, con valores de  $p < 0.05$ . Por lo que, consideramos que estos resultados proporcionan evidencia a favor de que, el gen SCN1A puede desempeñar un papel en la respuesta modificada del fármaco en la epilepsia.

Lo antes comentado, permite inferir el beneficio de las pruebas farmacogenéticas en la práctica clínica, para la individualización del tratamiento con fármacos que posteriormente podrán servir como predictores de la respuesta terapéutica.

Si bien nuestro estudio es predominantemente descriptivo. Consideramos relevantes los resultados porque hasta el momento no se había hecho un estudio de las mismas características en la población mexicana. El valor de las pruebas de asociación tiene significancia estadística. Los resultados coinciden con estudios realizados en Europa, China y Egipto.

Pensamos que nuestra investigación puede ser un parteaguas, para profundizar con respecto al estudio de la farmacorresistencia en pacientes epilépticos pediátricos mexicanos. La información con la que contamos en este momento nos permitirá realizar en breve la genotipificación de los polimorfismos y buscar su correlato con su expresión clínica.

Dentro de las fortalezas de nuestro estudio podemos mencionar que los estudios genéticos se realizaron a través de secuenciación masiva, tecnología que permite detectar todos los tipos de variación genómica en un único experimento. A diferencia de otras técnicas que sólo revelan información con respecto a un polimorfismo o una mutación. Estos avances en la genética molecular de la epilepsia, han cambiado la forma en que pensamos acerca sus causas y está destinado a tener un impacto en el diagnóstico y la gestión de las personas con epilepsia.

La secuenciación de todo el exoma está demostrando ser un método altamente eficaz en la identificación de un gen causante en el ámbito clínico <sup>31</sup>. En los tiempos actuales, todos los involucrados en el manejo de los pacientes de epilepsia, especialmente el clínico deben tener alguna información de base sobre la genética de la epilepsia.

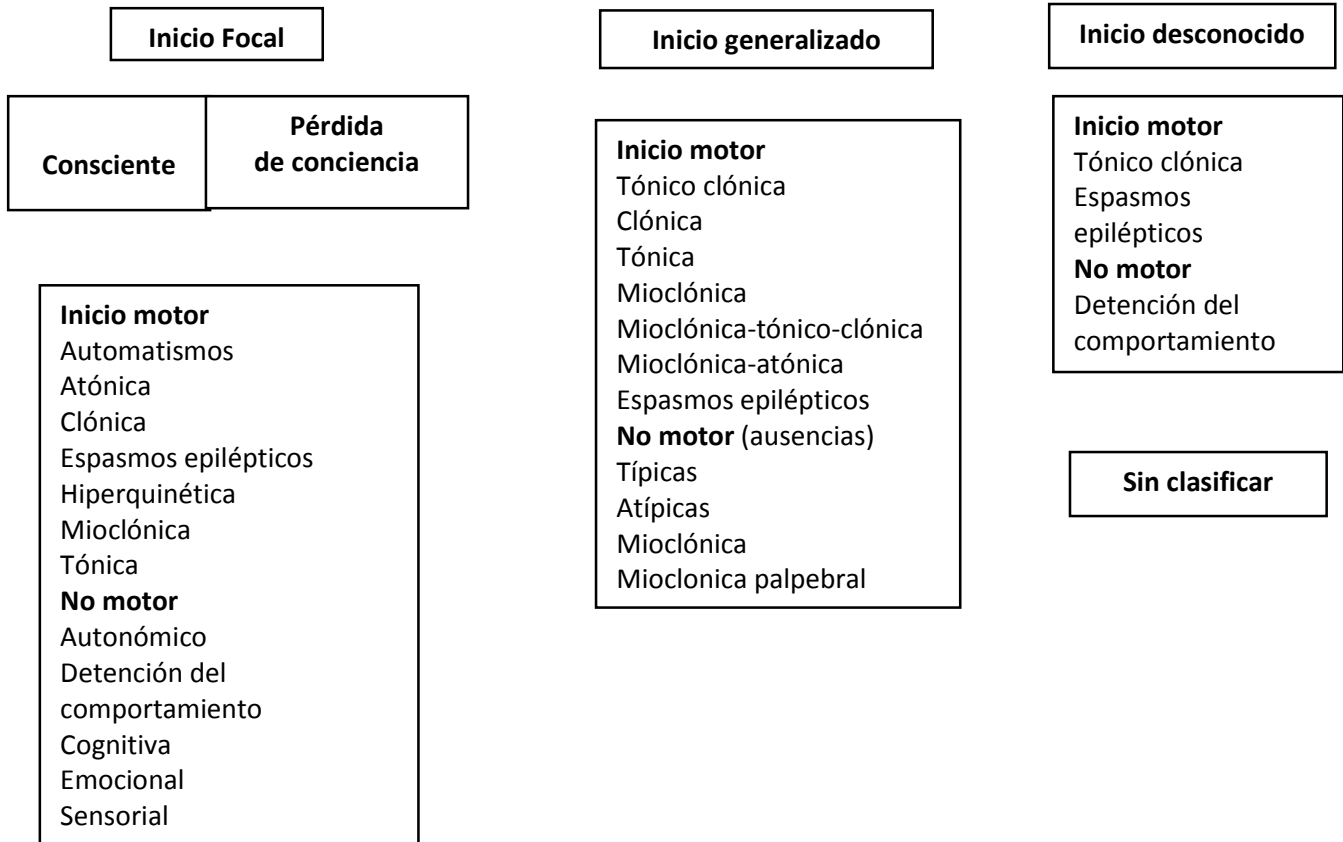
Como limitaciones del estudio se deben considerar en primer lugar que el componente heredado de la respuesta a los medicamentos es poligenético, por lo que los factores ambientales no pueden ser ignorados. El tamaño de muestra de la población de pacientes con epilepsia fue pequeño. En la epilepsia farmacorresistente, además de factores genéticos, podrían tenerse en cuenta: historia de tratamiento previo, etiología, duración de las crisis y número de crisis antes del inicio del tratamiento. De tal manera, que continuando con los estudios farmacogenéticos será posible establecer el papel de los polimorfismos, como biomarcadores de farmacorresistencia.

## CONCLUSIONES

- En la población pediátrica con epilepsia existen polimorfismos del gen SCN1A que son significativamente más frecuentes en pacientes con farmacoresistencia que en los pacientes con epilepsia controlada, particularmente en aquellos con epilepsia de causa desconocida.
- Existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de polimorfismos y la respuesta terapéutica de los pacientes, mostrando que los farmacoresistentes tienen mayor presencia de polimorfismos.
- La presencia de polimorfismos del gen SCN1A no tuvo asociación estadísticamente significativa cuando se compararon los pacientes según su etiología.
- Los pacientes pediátricos con epilepsia farmacoresistente tienen un OR>2 (IC 95%) de presentar los polimorfismos para el gen SCN1A, respecto a los pacientes con epilepsia controlada.
- Los polimorfismos del gen SCN1A pueden ser utilizados en nuestra población como un biomarcador genético a la respuesta terapéutica.

## ANEXO 1

### CLASIFICACIÓN DE LA EPILEPSIA SEGÚN LA ILAE 2017, VERSIÓN EXTENDIDA<sup>32</sup>.



## ANEXO 2

### Hoja de captura de datos

#### DATOS DEMOGRÁFICOS Y DE IDENTIFICACIÓN

<b>Número de registro</b>	
<b>Nombre</b>	
<b>Edad (años cumplidos)</b>	
<b>Género</b>	<b>Femenino ( )</b> <b>Masculino ( )</b>
<b>Fecha de nacimiento</b>	
<b>Dirección</b>	
<b>Teléfono</b>	
<b>Características clínicas de la epilepsia</b>	
<b>Tipo de crisis:</b> <b>Número de crisis por:</b> <b>Día: _____</b> <b>Mes: _____</b> <b>Año: _____</b> <b>Tratamiento farmacológico:</b> <b>Previo: _____</b> <b>Actual: _____</b> <b>Dosis del tratamiento:</b>	<b>Tiempo de evolución: Años</b> <b>Meses</b> <b>Farmacorresistente: SI ( ) NO ( )</b> <b>Controlada: SI ( ) NO ( )</b>
<b>Estudios de gabinete (Hallazgos)</b>	
<b>EEG:</b> <b>Neuroimagen:</b>	
<b>Polimorfismo en canales de sodio</b>	

## ANEXO 3

### METODOLOGÍA PARA LA SECUENCIACIÓN MASIVA

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

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

Las muestras serán mezcladas equimolarmente para una concentración final de 20 pM que será cargada a un cartucho de secuenciación del kit MiSeq Reagent Kit v2 de Illumina para su secuenciación en el instrumento MiSeq de Illumina. La configuración de la secuenciación será de 2x150 pareada. Las secuencias



obtenidas en formato .fastq serán analizadas con el software SureCall de Agilent Technologies para la detección de variantes utilizando el genoma humano Hg19 como referencia. Esta tecnología nos permitirá en un solo microarreglo secuenciar 5000 pares de bases, por paciente lo que permitirá identificar en cada paciente polimorfismos de los 10 genes candidatos que se han reportado con mayor asociación con la farmacorresistencia. Los polimorfismos relevantes, serán corroborados por secuenciación tipo Sanger.

## ANEXO 4



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLÍTICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO  
(NIÑOS Y PERSONAS CON DISCAPACIDAD)

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

Lugar y Fecha: número de registro.

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

### Procedimientos

Si decido participar ¿Qué me va a suceder? Si aceptas participar en este estudio, personal especializado te tomara 5 ml de sangre (como una cucharada sopera) una vez al inicio del estudio, si estas muy nervioso y no podemos obtener sangre, se te hará un raspadito con un cepillit y 5 ml de saliva cada 6 meses durante 2 años para ver si la cantidad pastillas que te dan para controlar las convulsiones son eficientes. ¿Qué molestias tendré, dolerá? La toma de sangre puede doler pero solo un segundo cuando entra la aguja en la superficie de tu piel, la toma en el carrillo bucal no produce molestia.

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

La participación es voluntaria: ¿Tengo que hacer esto? No tienes porque participar en esta investigación si no lo deseas. Es tu decisión si decides participar o no en la Investigación, está bien y no cambiara nada. Este es todavia tu hospital, todo sigue igual que antes. Incluso si dices que "si" ahora, puedes cambiar de idea más tarde y estará bien todavia. He preguntado al niño/a y entiende que la participación es voluntaria \_\_\_\_\_ (inicial).

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

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

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

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

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

No autoriza que se tome la muestra.

Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

Si autorizo que se tome la muestra para este estudios y estudios futuros.

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):

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

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

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

O Yo no deseo participar en la investigación y no he firmado el consentimiento que sigue. \_\_\_\_\_ (Iniciales del niño/menor). Solo si el niño/a asiente:

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma de ambos padres o tutores o representante legal

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Epilepsy Factsheet. Geneva: WHO; 2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/>
2. Pan American Health Organization. Report on Epilepsy in Latin America and the Caribbean. Washington, D.C. 2013, 1-50.
3. Pan American Health Organization. Epilepsy in Latin America, Santiago Chile, 2013, 1-108.
4. Burneo JG, Tellez-Zenteno J, Wiebe S. Understanding the burden of epilepsy in Latin America: a systematic review of its prevalence and incidence. *Epilepsy Res.* 2005; 66(1-3):63-74.
5. Nice.org.uk. Reino Unido. The epilepsies: the diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care. National Institute for Health and Clinical Excellence; 2004.
6. Aaberg KM, Gunnes N, Bakken IJ et al. Incidence and Prevalence of Childhood Epilepsy: A Nationwide Cohort Study. *Pediatrics.* 2017 May;139(5).
7. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005;46:470–47
8. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 2014; 55:475
9. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 2017, 58(4):512–521.
10. López M, Varela X, Marca S, Epileptic Syndromes in infancy, childhood and adolescence. *REV. MED. CLIN. CONDES - 2013; 24(6) 915-927*
11. Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000; 342:314.
12. Callaghan B, Schlesinger M, Rodemer W, et al. Remission and relapse in a drug-resistant epilepsy population followed prospectively. *Epilepsia* 2011; 52:61
13. Ulrich Zangers UA, Meyer. Molecular mechanism of genetic polymorphisms of drugs metabolism. *Ann Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997; 37:269-296.
14. Campos-Castelló J, Canción de López M, Briceño-cuadros S, et al. Canalopatías epilépticas. *Rev Neurol* 2002; 34: 145-149.

15. Remy S, Beck H. Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy. *Brain* 2006; 129:18-35.
16. Remy S, Gabriel S, Urban BW, Dietrich D, Lehmann TN, Elger CE, Heinemann U, Beck H. (2003) A novel mechanism underlying drug resistance in chronic epilepsy. *Ann Neurol* 53:469–479.
17. Tate SK, Depondt C, Sisodiya SM, Cavalleri GL, Schorge S, Soranzo N, Thom M, Sen A, Shorvon SD, Sander JW, Wood NW, Goldstein DB. (2005) Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the anti-epileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:5507–5512.
18. Meisler M, Karney J. Sodium Channel mutations in epilepsy and other neurological disorders. *J Clin Invest* 2005; 115: 2010-17.
19. Campos J, Canelon M, Garcia FM. Aspectos clínicos de las canalopatías epilépticas. *Rev. Neurol* 2000; 20: 42-46.
20. Vogel F. Moderne problem der humangenetic. *Ergeb Inn Med Kinderheikd* 1959; 12: 52-125.
21. Tate SK, Depondt C, Sisodiya SM, Cavalleri GL, Schorge S, Soranzo N, Thom M, Sen A, Shorvon SD, Sander JW, Wood NW, Goldstein DB. (2005) Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the anti-epileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:5507–5512.
22. Tate SK, Singh R, Hung CC, et al. A common polymorphism in the SCN1A gene associates with phenytoin serum levels at maintenance dose. *Pharmacogenet Genom.* 2006;16:721–6
23. Zimprich F, Stogmann E, Bonelli SB, Baumgartner C, Mueller JC, Meitinger T, Zimprich A, Strom TM. (2008) A functional polymorphism in the SCN1A gene is not associated with carbamazepine dosages in Austrian patients with epilepsy. *Epilepsia* 49:1108– 1109
24. Zhou L, Cao Y, Long H, Long L, Xu L, Liu Z, Zhang Y, Xiao B. ABCB1, ABCC2, SCN1A, SCN2A, GABRA1 gene polymorphisms and drug resistant epilepsy in the Chinese Han population. *Pharmazie.* 2015 Jun; 70(6):416-20.
25. Jimenez-Arredondo RE, Gutierrez Moctezuma J, Solorzano Gómez E, et. Al. Análisis genético de la subunidad alfa de canal de sodio dependiente de voltaje (SCN1A) en pacientes pediátricos con epilepsia refractaria. *Rev Mex Neurol Jun* 2013 (4) 177-182.
26. López-García MA, Fera-Romero IA, Serrano H, Rayo-Mares D, Fagiolino P, Vázquez M, Escamilla-Núñez C, Grijalva I, Escalante-Santiago D, Orozco-Suarez

S. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy. *Pharmacol Rep.* 2017 Jan 19;69(3):504-511.

27. Escalante-Santiago D, Feria-Romero IA, Ribas-Aparicio RM, Rayo-Mares D, Fagiolino P, Vázquez M, Escamilla-Núñez C, Grijalva-Otero I, López-García MA, Orozco-Suárez S. MDR-1 and MRP2 Gene Polymorphisms in Mexican Epileptic Pediatric Patients with Complex Partial Seizures. *Front Neurol.* 2014 Oct 9;5:184

28. Meng H, Xu HQ, Yu L, Lin GW, He N, Su T, et al. The SCN1A mutation database: updating information and analysis of the relationships among genotype, functional alteration, and phenotype. *Hum Mutat* 2015, 36: 573–580.

29. Trimmer JS, Rhodes KJ. Localization of voltage-gated ion channels in mammalian brain. *Annu Rev Physiol* 2004, 66: 477–519.

28. Angelopoulou C, Veletza S, Heliopoulos I, et al. Association of SCN1A gene polymorphism with antiepileptic drug responsiveness in the population of Thrace, Greece. *Archives of Medical Science : AMS.* 2017; 13(1):138-147.

29. Abe T, Seo T, Ishitsu T, et. al. Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *British Journal of Clinical Pharmacology.* 2008;66(2):304-307.

30. Abo El Fotoh, Wafaa Moustafa M. et al. The potential implication of SCN1A and CYP3A5 genetic variants on antiepileptic drug resistance among Egyptian epileptic children. *Seizure - European Journal of Epilepsy* , 2016 (41), 75 - 80

31 . Veeramah KR, Johnstone L, Karafet TM, Wolf D, Sprissler R, Salogiannis J, et al. Exome sequencing reveals new causal mutations in children with epileptic encephalopathies. *Epilepsia.* 2013;54:1270–81

32. Fisher RS, Cross JH, Souza CD, et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 2017; 58 (4) 531-542.