



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 DR. SILVESTRE FRENK FREUND



**“EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS PGP (ABCB1) y MPR2 (ABCC2) EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EPILEPSIA CON RESPECTO A SU ETIOLOGÍA Y RESPUESTA A TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA

Presenta: Eric David Matus Pineda

Residente de Neurología Pediátrica. UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI

Mail: edmpineda@hortmail.com

Teléfono 56276900 ext. 22263

Tutor: Dra. Araceli Reyes Cuayahuitl

Neuróloga pediatra. Neurofisióloga clínica.

Adscrito al servicio de Neurología Pediátrica. UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI.

Teléfono 56276900 ext. 22263.

Asesor metodológico: Dr. Jesús Dario Rayo Mares

Jefe de Servicio de Neurología pediátrica, UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI.

Teléfono 56276900 ext. 22263.

Colaboradores:

Dra. Sandra Orozco Suárez

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas. Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI. Teléfono 56276900 ext. 22365.

Dra. Mónica Rangel Ramírez.

Adscrita al servicio de Neurología Pediátrica del HGR 72 del IMSS.

Dra. Julia Rocío Herrera Marquez.

División de investigación en salud, UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI.



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.



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 DR. SILVESTRE FRENK FREUND



**"EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS PGP (ABCB1) y MPR2 (ABCC2) EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EPILEPSIA CON RESPECTO A SU ETIOLOGÍA Y RESPUESTA A TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO"**

Esta investigación fue realizada con la autorización del Comité Nacional de Investigación y Ética en Salud, con el número de registro:

**R-2015-785-088.**

**ENMIENDA Y COMITÉ DE BIOÉTICA COBIOÉTICA-09-CEI-009-20160601**

Dr. Jesús Darío Rayo Mares  
Presidente

Dra. Julia Rocío Herrera Márquez  
Secretaria

Dr. Juan Pablo Muñoz Montúfar  
Vocal



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

Ciudad de México, a 13 de febrero de 2018.

**DRA. SANDRA ADELA OROZCO SUÁREZ**

Investigador Principal  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas  
UMAE Hospital de Especialidades, C.M.N. Siglo XXI  
PRESENTE


En relación al protocolo "Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente" con número de registro 2015-785-088, el Comité de Ética en Investigación CONBIOÉTICA-09-GEI-009-20160601, revisó y se da por enterado la incorporación como alumnos al proyecto, Eric David Matus Pineda y Jazmin del Carmen Comellas Pineda.

Sin otro particular, le envío un saludo.

Atentamente



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



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

RBS  
mdm  
F-ONIC-2015-83

## ÍNDICE

MARCO TEÓRICO.....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	13
OBJETIVOS.....	15
OBJETIVOS GENERALES.....	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
LUGAR DE ESTUDIO.....	16
DISEÑO DE ESTUDIO.....	16
UNIVERSO.....	16
CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	17
- CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	17
- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	17
OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	18
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.....	19
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	20
ASPECTOS ÉTICOS.....	20
RECURSOS.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUSIÓN.....	26
CONCLUSIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31
ANEXO 1.....	33
ANEXO 2.....	34

## RESUMEN

**ANTECEDENTES** Epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común que afecta a la población mundial. Se caracteriza por crisis recurrentes, las cuales pueden ser breves episodios de movimientos involuntarios focales o generalizados, además pueden estar acompañados de alteración del estado de conciencia. Existen 50 millones de personas con la enfermedad en todo el mundo. La mayoría de los niños con epilepsia van a lograr un buen control de crisis con fármacos antiepilépticos (FAE), sin embargo cerca de un 25 % de los pacientes con epilepsia son resistentes a estos. El paso selectivo de sustancias es una de las funciones más importantes de la membrana plasmática, dentro de los mecanismos de transporte involucrados en este proceso se encuentra el transporte activo a través de proteínas transmembranales como la familia ABC, estas se han relacionado a procesos de resistencia a fármacos en diversas enfermedades sistémicas.

**OBJETIVO:** Determinar la expresividad de las proteínas PGP (ABCB1) y MPR2 (ABCC2) en pacientes pediátricos con epilepsia según su etiología y respuesta a tratamiento farmacológico.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio transversal descriptivo elaborado a partir de la determinación del estudio genético de secuenciación masiva de los genes ABCB1 y ABCC2 en muestras de pacientes de ambos sexos con diagnóstico de epilepsia con edad entre 1 y 16 años que acuden a la consulta externa de Neurología Pediátrica del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI.

**RESULTADOS y CONCLUSIONES:** Se identificaron 19 polimorfismos en el gen ABCB1 y 12 en el gen ABCC2, para un total de 49 pacientes incluidos en el estudio, dentro de ellos hubo discreto predominio del sexo femenino y de pacientes mayores a 6 años de edad, el tipo de crisis predominante fue el focal con alteración del estado de conciencia, la etiología más frecuente fue la estructural; para el gen ABCB1 el polimorfismo con mayor frecuencia fue el rs2214102, para el gen ABCC2 identificamos predominio de dos polimorfismos que fueron el rs4148396 y el rs927344, todos para ambos grupos entre controlados y farmacorresistentes. No encontramos diferencia significativa en la expresividad de los polimorfismos de los genes estudiados en relación a los procesos de resistencia a los fármacos antiepilépticos.

## MARCO TEÓRICO

### EPILEPSIA

Epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común que afecta a la población mundial. Se caracteriza por crisis recurrentes, las cuales pueden ser breves episodios de movimientos involuntarios que incluyen una parte del cuerpo (focales) o el cuerpo completo (generalizadas), además pueden estar acompañados de alteración del estado de consciencia. (1)

La ILAE define epilepsia como: al menos dos crisis no provocadas separadas por más de 24 horas, una crisis no provocada en un individuo con factores de riesgo altos de recurrencia de crisis (al menos del 60%), dichos riesgos están dados por enfermedad vascular cerebral, infecciones del SNC, daño encefálico por traumatismo, diagnóstico de un síndrome epiléptico específico. Aquellos con crisis reflejas como las fotosensibles también son considerados como epilepsia. (2,3)

Se considera epilepsia resuelta si el individuo se encuentra libre de crisis por 10 años y sin tratamiento farmacológico al menos los últimos 5 años, o en caso de pasar la edad de un síndrome epiléptico dependiente de edad. (2)

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, existen 50 millones de personas con la enfermedad en el mundo. La incidencia de la epilepsia en los países desarrollados oscila entre 42 y 61 por 100 000 habitantes (1); la cifra suele acercarse al doble o más en los países en vías de desarrollo. (1,5) La epilepsia afecta a todos los grupos etarios con mayor incidencia en la población infantil (4,6). En México, la prevalencia estimada es entre 349 a 680 por 100 000 habitantes en la población general y entre 180 a 400 por 100 000 habitantes en la población infantil. La epilepsia es considerada dentro de las principales enfermedades vinculadas a la mortalidad por enfermedades no infecciosas de la población infantil en México. (4,7)

La epilepsia tiene una distribución bimodal, siendo mayor en las dos primeras décadas de la vida, luego disminuye y vuelve a aumentar a partir de la sexta década de la vida. La mayor frecuencia de la epilepsia es en la edad pediátrica, y el sexo masculino es el más afectado.(8,9) Aproximadamente uno de cada 150 niños es diagnosticado de epilepsia durante los primeros 10 años de vida. En México cada año se reportan de 400 a 800 casos nuevos por 100 000 niños.(10)

## **EPILEPSIA REFRACTARIA O FARMACORRESISTENTE**

La epilepsia farmacorresistente es una condición definida previamente por la Liga Internacional contra la Epilepsia como la persistencia de crisis epilépticas a pesar de haber utilizado al menos dos tratamientos con fármacos antiepilépticos apropiados y adecuados.(11)

En el año 2010, la ILAE estandarizó la definición de epilepsia farmacorresistente. Esta nueva propuesta permite clasificar la respuesta terapéutica en tres grupos: libertad de crisis epilépticas (epilepsia controlada), fallo terapéutico (epilepsia farmacorresistente) y respuesta indeterminada. Esta definición se fundamenta en el dominio de fármacos utilizados y el dominio de libertad de crisis. De esta forma, la definición actual considera que un paciente presenta epilepsia farmacorresistente cuando no logra la libertad de crisis epilépticas después de haber utilizado al menos dos tratamientos apropiados y adecuados (en monoterapia o politerapia).(12)

Cerca de un 20-30% de los pacientes con epilepsia van a ser resistentes a los fármacos antiepilépticos, con diferentes patrones de presentación clínica, los cuales están en relación con las bases biológicas de esta enfermedad (resistencia *de novo*, recaída-remisión y progresiva). La farmacorresistencia en epilepsia impacta negativamente en la calidad de vida y aumenta significativamente el riesgo de muerte prematura. Desde el punto de vista neurobiológico, esta condición clínica es el resultado de la interacción de múltiples variables



relacionadas con la enfermedad de base, las interacciones medicamentosas y los aspectos genéticos propios de cada paciente.(11,12)

Actualmente contamos con más de 25 medicamentos para el control de las crisis epilépticas, sin embargo, a pesar de las múltiples opciones terapéuticas, cerca de un 25 % de los pacientes con epilepsia son resistentes a los fármacos antiepiléptico.(11,13)

Está claramente demostrado que la epilepsia farmacorresistente impacta negativamente en la calidad de vida de los pacientes, disminuyendo significativamente la capacidad laboral y académica, por otro lado tienen de dos a diez veces más riesgo de muerte prematura en comparación con la población general. (14,15)

La respuesta farmacológica es el resultado de la interacción del fármaco con el receptor o blanco farmacológico, con la subsecuente transducción de señales dentro de la célula. Sin embargo la absorción, distribución, metabolismo y excreción del fármaco también desempeñan un papel fundamental en la eficacia farmacológica, ya que estos procesos regulan la concentración del fármaco en el sitio de acción. (16)

## **PRINCIPALES MECANISMOS DE ACCIÓN FARMACOLÓGICA EN EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE**

Actualmente, en la definición de epilepsia difícil de estabilizar se utilizan muchos términos sinónimos: epilepsia refractaria a fármacos, epilepsia intratable, epilepsia resistente al tratamiento de fármacos o epilepsia farmacorresistente, epilepsia grave e incapacitante. La mayoría de los autores coincide en que es la que no responde al uso de dos o tres fármacos antiepilépticos de primera elección con la máxima dosis tolerada, ya sea monoterapia o en combinación, en un periodo entre uno y dos años. (17)

Los mecanismos farmacocinéticos son los que impiden que se alcancen las concentraciones del fármaco antiepiléptico en el sitio de acción. Entre ellos están los siguientes: administración de una dosis inadecuada (seudoresistencia); nivel sérico subterapéutico, a pesar de una dosis adecuada; nivel sérico en límite terapéutico, pero con una concentración insuficiente del principio activo en el parénquima cerebral. (17)

### **Pseudoresistencia (13)**

<b>Razón</b>	<b>Ejemplos</b>
Diagnóstico erróneo	Síncope, arritmia cardíaca, crisis psicógenas no epilépticas.
Fármaco erróneo	Inapropiada para el tipo de crisis; interacción farmacocinética o farmacodinámica.
Dosis errónea	Muy baja (subdosis en niveles séricos); efectos secundarios previo al incremento del FAE.
Estilo de vida	Inconformidad con el tratamiento; alcohol o drogas de abuso.

Los mecanismos farmacodinámicos que participan en la resistencia a los antiepilépticos son todos los factores que alteran la acción de dichos fármacos en sus sitios de acción, en el sistema nervioso central (sitios diana), a pesar de que haya niveles séricos y concentraciones adecuados en el parénquima cerebral. Las alteraciones farmacodinámicas pueden ocurrir en la sinapsis (sitio de comunicación neuronal) o en los sitios efectores ubicados en la membrana neuronal (canales iónicos, receptores). (19)

Se sugieren tres hipótesis para tratar de explicar posibles alteraciones farmacodinámicas, a las cuales nos referiremos a continuación:

1ª Hipótesis del transportador. Consiste en que en el foco epiléptico existe incremento de la expresión de proteínas que transportan fármacos, principalmente de la glicoproteína-P (PgP), debido a cambios adquiridos en el foco epiléptico o debido a una variación genética del gen que la codifica. El estado de refractariedad a los medicamentos se debe a una expresión aumentada del gen de

resistencia a fármacos múltiples (MDR, “Multidrug Resistance”) y de la proteína que dicho gen codifica (la glicoproteína-P). La Pgp es una proteína dependiente de ATP, la cual exporta fármacos y material tóxico de las células al torrente sanguíneo, esto es, hay transporte del fármaco fuera del foco epiléptico. Estas proteínas son predominantemente expresadas tanto en células endoteliales como en astrocitos y regulan la capacidad de paso de los fármacos antiepilépticos a través de la barrera hematoencefálica y la barrera sangre-LCR. Como resultado de la regulación a la elevación de la glicoproteína-P, se ha observado una reducción de las concentraciones de fenitoína y oxcarbazepina en los focos epilépticos. Es posible que la administración intracerebral de inhibidores de la Pgp, como el verapamil o el PSC833, eviten el transporte de los fármacos antiepilépticos del medio extracelular al torrente sanguíneo y finalmente se facilite su acción a nivel cerebral. (18,20,21)

2ª Hipótesis de modificación de “blancos farmacológicos” que implica cambios en los niveles de receptores o canales iónicos a nivel celular dentro del área epiléptica, lo que la vuelve menos susceptible a los fármacos antiepilépticos. Por ejemplo, se han observado cambios en los canales de sodio dependientes de voltaje y los canales de calcio, así como en los receptores GABA-A, lo que conduce a la reducción de la eficacia de varios fármacos antiepilépticos. (21)

3ª Hipótesis denominada modelo de gravedad intrínseca de la epilepsia. Esta propone que existe una continuidad en la severidad de la enfermedad, lo que determina su respuesta relativa a la medicación.

## **PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE FÁRMACOS**

El paso selectivo de sustancias es una de las funciones más importantes de la membrana plasmática. Dentro de los mecanismos de transporte involucrados en este proceso, se encuentra el transporte activo, el cual requiere de la participación de algunas proteínas transmembranales, que determinan el paso de las sustancias en contra de un gradiente de concentración o de un potencial

electroquímico, por lo que requieren del consumo de energía en forma de ATP para su funcionamiento. (23,24)

Los genes ABC son esenciales para muchos procesos celulares como por ejemplo, la absorción y eliminación de fármacos en el organismo. En la última década, el término polimorfismo se ha relacionado con los transportadores de membrana que participan en la respuesta farmacológica, pues se ha comprobado que una mínima variación en la secuencia de su ADN se traduce como una alteración en el fenotipo, que provoca cambios en esta respuesta. (23)

Desde el punto de vista clínico los transportadores del tipo ABC también tienen gran importancia ya que se pueden relacionar con la aparición de afecciones como Alzheimer (ABCAB1 y ABCA7/ gpP), aterosclerosis (ABCA1 y ABCG1), enfermedades hepáticas (ABCB11 y ABCB4), además de las que se corresponden con los trastornos genéticos antes mencionados. Este contexto convierte a los transportadores ABC en dianas atractivas para el diseño de medicamentos. Sin embargo pueden, al mismo tiempo, expulsar diferentes fármacos de la célula, haciéndola resistente a estos como se ha descrito para agentes antitumorales, antirretrovirales y anticonvulsivantes. (23,25,26)

Los transportadores ABC se subdividen a su vez en siete clases o subfamilias (A-G) según la homología de su secuencia:

ABCA: tiene 12 miembros; ABCB: tiene 11 miembros; ABCC: tiene 13 miembros; ABCD: tiene cuatro miembros; ABCE: tiene un miembro; ABCF: tiene tres miembros y ABCG: tiene cinco miembros. (27,28)

Hasta la fecha se han identificado principalmente tres de las proteínas transportadoras de la superfamilia ABC de las bombas ATPasas que se encuentran implicadas en la resistencia farmacológica:

- Glicoproteína P (gpP), relacionada con subfamilia ABCB1.

- Proteína asociada a resistencia a múltiples fármacos (Mrp), relacionada con la ABCC2.
- Proteína asociada a resistencia en cáncer de mama (Brcp) relacionada con ABCG. (27)

La resistencia medicamentosa a fármacos anticonvulsivantes está presente en alrededor de la tercera parte de los pacientes epilépticos, los cuales no responden a la terapia simple o combinada con este tipo de medicamentos. Esta situación se asocia con aumento de la morbilidad y la mortalidad. (29)

Se han comprobado diferentes vías que participan en la activación de los mecanismos de resistencia relacionados, fundamentalmente con alteraciones en los transportadores de membrana. La gpP, producto de ABCB1 de la superfamilia ABC de la ATPasa, es uno de ellos; su expresión a nivel de la cara apical de las células epiteliales del intestino y en las células endoteliales de los capilares cerebrales regula la biodisponibilidad oral y el acceso cerebral de los fármacos anticonvulsivantes respectivamente. En pacientes con epilepsia intratable, la reducción de la concentración del medicamento dentro de los tejidos afectados se ha relacionado con sobre-expresión de estos transportadores a nivel de la barrera hematoencefálica. (30)

En los últimos años la Mrp 2, miembro también de la superfamilia ABC (ABCC2), se ha visto implicada en este tipo de resistencia mediante la aparición de variaciones genéticas. La sobreexpresión de los transportadores ABCC2 en las células de la barrera hematoencefálica puede incrementar el eflujo de fármacos anticonvulsivantes a través de los capilares del lumen, lo que provoca una reducción en la concentración de estos en el cerebro hasta niveles que pueden ser inadecuados para el control de las convulsiones. (31)

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La epilepsia es un trastorno secundario a una descarga neuronal excesiva, ya definida como un problema de salud pública por la OMS, una tercera parte de los pacientes con esta patología no responden a tratamiento farmacológico, la causa de ello es un tema de interés teniendo la premisa de que existen mecanismos genéticos que juegan un papel importante en la etiología, las proteínas relacionadas con la resistencia al tratamiento, entre ellas las implicadas con transportadoras de membrana cuya variación en la secuencia de ADN produce alteraciones en el fenotipo y participación en la respuesta farmacológica, principalmente hacia la resistencia.

Por lo que se formulan las siguientes preguntas de investigación:

¿Cuál es la expresión de las proteínas PGP (ABCB1) en pacientes pediátricos con respecto a su etiología y respuesta a tratamiento farmacológico?

¿Cuál es la expresión de las proteínas MPR2 (ABCC2) en pacientes pediátricos con respecto a su etiología y respuesta a tratamiento farmacológico?

## JUSTIFICACIÓN

La epilepsia es un padecimiento que sigue estudiándose, principalmente aquella en la que su etiología es desconocida, los mecanismos genéticos han tenido un papel predominante en el campo de la investigación en epilepsia, ya que hay múltiples propuestas que podrían explicar su fisiopatología.

En la última década, el término polimorfismo se ha relacionado con los transportadores de membrana que participan en la respuesta farmacológica, pues se ha comprobado que una mínima variación en la secuencia de su ADN se traduce como una alteración en el fenotipo, que provoca cambios en esta respuesta (23), los transportadores ABC en dianas atractivas para el diseño de medicamentos, pero al mismo tiempo, pueden expulsar diferentes fármacos de la célula, haciéndola resistente a estos. (23,25,26)

La UMAE Hospital De Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” es un centro de referencia de pacientes pediátricos con epilepsia de difícil control, a quienes se les realiza estudios moleculares, codificación de genes, polimorfismos y proteínas, incluyendo la proteína PGP y MPR2 involucradas en farmacorresistencia.

El presente estudio pretende describir la expresión de dichas proteínas en pacientes pediátricos con epilepsia con la finalidad de obtener información que apoye la relación entre farmacorresistencia y presencia de las proteínas mencionadas.

## **OBJETIVOS GENERALES**

- Determinar la expresividad de las proteínas PGP (ABCB1) y MPR2 (ABCC2) en pacientes pediátricos con epilepsia según su etiología.
- Determinar la expresividad de las proteínas PGP (ABCB1) y MPR2 (ABCC2) en pacientes pediátricos con epilepsia según la respuesta a tratamiento farmacológico.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Describir los tipos de epilepsia en edad pediátrica.
- Describir la etiología de epilepsia en pacientes pediátricos.
- Describir la respuesta a tratamiento farmacológico de pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **LUGAR DE ESTUDIO**

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

### **TIPO DE ESTUDIO**

Transversal descriptivo.

### **UNIVERSO DE ESTUDIO**

Se incluyeron pacientes de 6 meses a 16 años 11 meses de edad con diagnóstico de epilepsia, atendidos la consulta externa de Neurología Pediátrica en la Unidad de Medicina de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría Silvestre Frenk Freund.

### **TIPO DE MUESTREO**

Se incluyeron a todos los pacientes que previamente participaron en el estudio “Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con epilepsia farmacorresistente” y “Comparación de niveles de interleucinas entre subgrupos de pacientes pediátricos mexicanos con epilepsia farmacorresistente y controlada”, la probabilidad que tiene la población de estudio de ser seleccionado no es conocida por lo que el muestreo se determinó como no probabilístico, por conveniencia.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **- CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes de ambos sexos.
- Pacientes de 6 meses a 16 años 11 meses de edad.
- Pacientes con diagnóstico de epilepsia.
- Pacientes que cuenten con consentimiento para el análisis de muestra previamente tomada.

### **- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Pacientes que no cuenten con expediente completo.
- Pacientes cuya muestra sea inadecuada para el análisis.

## OPERACIONALIZACIÓN VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	MEDICIÓN
EDAD	Tiempo que ha vivido una persona.	Edad en años cumplidos que tiene la persona en este momento.	Cuantitativa	AÑOS
SEXO	Condición orgánica, masculino o femenino.	Sexo de la persona.	Cualitativa. Dicotómica.	1.FEMENINO 2.MASCULINO
NÚMERO DE CRISIS	Frecuencia con que se presentan las crisis epilépticas en un individuo.	Frecuencia con que se presentan las crisis epilépticas en un individuo.	Cuantitativa discreta	NÚMERO DE CRISIS POR DÍA.
TIPO DE EPILEPSIA	Forma de presentación.	Manifestación clínica predominante.	Cualitativa.	1.FOCAL 2.GENERALIZADA
TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA EPILEPSIA	Tiempo que transcurre desde la primera crisis hasta el día de la toma de la muestra.	Tiempo de evolución de la epilepsia	Cuantitativa Continua.	MESES
EPILEPSIA FARMACOSENSIBLE	Epilepsia que responde a FAE a adecuadas dosis	Tratamiento actual del paciente.	Cualitativa nominal. Dicotómica.	1.SÍ 2.NO
ETIOLOGÍA DE LA EPILEPSIA	Causa que originó la epilepsia.	Etiología actual del paciente.	Cualitativa.	1-GENÉTICA 2-ESTRUCTURAL 3-METABÓLICA 4-DESCONOCIDA
EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE	Epilepsia refractaria a tx con dos fármacos por un año sin control.	Farmacorresistencia actual del paciente.	Cualitativa nominal. Dicotómica.	1-SÍ 2-NO
NÚMERO DE FÁRMACOS	Cantidad de fármacos antiepilépticos usados para el tratamiento de las crisis epilépticas.	Cantidad de fármacos antiepilépticos usados para el tratamiento de las crisis epilépticas.	Cuantitativa discreta	1, 2, 3, 4
EXPRESIVIDAD PROTEÍNA ABCB1	Proteína receptora de fármacos.	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en la proteína ABCB1	Cualitativa Nominal	Polimorfismo (rs)
EXPRESIVIDAD PROTEÍNA ABCC2	Proteína receptora de fármacos.	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en la proteína ABCC2	Cualitativa Nominal	Polimorfismo (rs)

## DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

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

Las muestras séricas tomadas a los pacientes, se utilizaron para ser analizadas en búsqueda de polimorfismos de ABCB1 Y ABCC2 en secuenciación masiva. Se elaboró una hoja de recolección de datos en la que se concentraron los datos clínicos de los pacientes posteriormente se creó una base de datos.

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

## **ANALISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó estadística descriptiva en frecuencia y porcentaje de acuerdo a la distribución de las variables.

## **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 se emplearon métodos de investigación documental. Toda la información fue recolectada 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 epilepsia farmacorresistente”. Fue sometido por medio de enmienda a evaluación por el Comité Nacional de Investigación Científica con número de registro 2015-785-088 y CONBIOÉTICA-09-CEI-009-20160601.

## RECURSOS

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

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

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

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

No se requirió financiamiento para la elaboración del presente estudio.

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

## RESULTADOS

Se incluyeron un total de 49 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, de los cuales el 75.5% (n=37) correspondieron al grupo de epilepsia farmacorresistente y 24.5% (n=12) al grupo de epilepsia controlada. Teniendo clasificados de esta manera a los pacientes se decidió describir cada uno de los grupos de acuerdo a edad obteniéndose en el grupo controlado la mayor frecuencia en el rango de 6 a 12 años con el 67% (n=8) seguido de mayores de 12 años con el 25% (n=3) y en el grupo farmacorresistente el mayor número de pacientes en el rango de mayores de 12 años con el 54% (n=20); de acuerdo a sexo en grupo controlado con predominio del femenino con el 58% (n=7) y en el grupo farmacorresistente el mismo predominio con el 54% femenino (n=20); con respecto al tipo de crisis epiléptica en ambos grupos la más frecuente fue el tipo focal con alteración del estado de conciencia; según la etiología de la epilepsia en el grupo de pacientes controlados en la misma proporción de 50% entre origen desconocido y estructural, en el grupo de farmacorresistentes predominando el origen estructural con el 41% (n=15) seguido del origen desconocido con 35% (n=13), posteriormente el origen genético con 19% (n=7) y por último el origen metabólico con 5% (n=2). Para el número de fármacos utilizados en los esquemas de tratamiento en el grupo de controlados obtuvimos el 50% con un solo fármaco en su esquema (n=6), 25% para el uso de 2 fármacos (n=3) y 25% para el uso de más de dos fármacos (n=3), mientras que en el grupo de los farmacorresistentes tuvimos el 56% para el uso de más de 2 fármacos (n=21), 22% para el uso de 2 fármacos y 22% para el uso de 1 fármaco (n=8). (Tabla I)

**Tabla I. Características de los pacientes pediátricos con epilepsia resistente y no resistente a tratamiento. (N=49)**

CARACTERÍSTICA	EPILEPSIA CONTROLADA (N=12)		EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE (N=37)	
	N.	%	N.	%
<b>GÉNERO</b>				
MASCULINO	5	42	17	46
FEMENINO	7	58	20	54
<b>EDAD EN AÑOS</b>				
< 2 AÑOS	0	0	0	0
2 A 6 AÑOS	1	8	7	19
6 A 12 AÑOS	8	67	10	27
> 12 AÑOS	3	25	20	54
<b>TIPO DE CRISIS</b>				
FOCAL	4	33	7	19
FOCAL AEC*	6	50	20	54
GENERALIZADA	2	17	10	27
<b>ETIOLOGÍA</b>				
DESCONOCIDA	6	50	13	35
ESTRUCTURAL	6	50	15	41
GENÉTICA	0	0	7	19
METABÓLICA	0	0	2	5
<b>NÚM. DE FÁRMACOS</b>				
1	6	50	8	22
2	3	25	8	22
>2	3	25	21	56

\*Alteración del estado de conciencia.

En el presente estudio se encontró un total de 31 polimorfismos para los genes ABCB1 y ABCC2.

Para el gen ABCB1 identificamos 19 polimorfismos, encontrando que el de mayor frecuencia es el rs2214102 en el grupo de los farmacorresistentes apareciendo en el 97% de los pacientes y compartiendo con otros genes el mismo porcentaje de aparición en el 100% de los pacientes controlados. (Tabla II)



**Tabla II. Frecuencia de polimorfismos del gen ABCB1 con epilepsia farmacorresistente y controlada.**

<b>Polimorfismo</b>	<b>Epilepsia farmacorresistente</b>		<b>Epilepsia controlada</b>	
	<b>N</b>	<b>(%)</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<b>rs3842</b>	<b>8</b>	<b>22</b>	<b>3</b>	<b>25</b>
<b>rs17064</b>	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>25</b>
<b>rs2235051</b>	<b>35</b>	<b>95</b>	<b>12</b>	<b>100</b>
<b>rs1045642</b>	<b>29</b>	<b>78</b>	<b>12</b>	<b>100</b>
<b>rs2032583</b>	<b>10</b>	<b>27</b>	<b>5</b>	<b>42</b>
<b>rs2032582</b>	<b>30</b>	<b>81</b>	<b>11</b>	<b>92</b>
<b>rs1922242</b>	<b>22</b>	<b>59</b>	<b>9</b>	<b>75</b>
<b>rs2235035</b>	<b>22</b>	<b>59</b>	<b>8</b>	<b>67</b>
<b>rs2235033</b>	<b>29</b>	<b>78</b>	<b>12</b>	<b>100</b>
<b>rs2032588</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs1128503</b>	<b>28</b>	<b>76</b>	<b>11</b>	<b>92</b>
<b>rs2229109</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs10276036</b>	<b>28</b>	<b>76</b>	<b>12</b>	<b>100</b>
<b>rs2235015</b>	<b>11</b>	<b>30</b>	<b>4</b>	<b>33</b>
<b>rs2235074</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs9282564</b>	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs2214102</b>	<b>36</b>	<b>97</b>	<b>12</b>	<b>100</b>
<b>rs3213619</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs4148727</b>	<b>4</b>	<b>11</b>	<b>1</b>	<b>8</b>

Para el gen ABCC2 se identificaron en total 12 polimorfismos con predominio de aparición de 2, el rs4148396 y el rs927344 con el 97% y el 95% respectivamente en el grupo de farmacorresistentes, y estos mismos apareciendo en el 100% de los pacientes del grupo de los controlados.

**Tabla III. Frecuencia de polimorfismos del gen ABCC2 con epilepsia farmacorresistente y controlada.**

<b>Polimorfismo</b>	<b>Epilepsia farmacorresistente</b>		<b>Epilepsia controlada</b>	
	<b>N</b>	<b>(%)</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<b>rs717620</b>	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>17</b>
<b>rs927344</b>	<b>35</b>	<b>95</b>	<b>12</b>	<b>100</b>
<b>rs2273697</b>	<b>11</b>	<b>30</b>	<b>2</b>	<b>17</b>
<b>rs41318031</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>17</b>
<b>rs4148396</b>	<b>36</b>	<b>97</b>	<b>12</b>	<b>100</b>
<b>rs17222723</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs3740066</b>	<b>14</b>	<b>38</b>	<b>8</b>	<b>67</b>
<b>rs17216282</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs1137968</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>rs8187707</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>17</b>
<b>rs17216212</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>17</b>
<b>rs8187710</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>8</b>

## DISCUSIÓN

La epilepsia es el trastorno neurológico más común, se estima en el 1% de la población mundial. Se caracteriza por crisis recurrentes, las cuales pueden tener diversas características clínicas, además pueden estar acompañados de alteración del estado de consciencia, el 30% de los pacientes con epilepsia son resistentes a tratamiento farmacológico a pesar de haber utilizado dos fármacos antiepilépticos apropiados y adecuados. Uno de los mecanismos por los cuales se ha tratado de explicar la farmacorresistencia en estos pacientes es la presencia de polimorfismos a diferentes niveles uno de ellos a nivel de proteínas transmembrana donde se involucran genes ABC cuyo papel se encuentra relacionado con la absorción y eliminación de fármacos.

En nuestro estudio se describe la expresividad de las proteínas PGP y MPR2 relacionadas a los genes ABCB1 y ABCC2 respectivamente, dichas proteínas están asociadas a farmacorresistencia en patologías a nivel de diversos órganos y sistemas, sin embargo, a pesar de que existen teorías, no se cuenta con muchos estudios importantes para la relación de dichas proteínas en la resistencia a las terapias farmacológicas habituales en epilepsia, es aquí donde cobra importancia este estudio.

Teniendo como universo de estudio a pacientes de la UMAE Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI, se pudo realizar la secuenciación masiva para poder describir la expresividad de dichas proteínas en los pacientes de acuerdo a edad, sexo, tipo de crisis epiléptica, etiología y número de fármacos en su tratamiento, con lo cual obtuvimos los resultados que se analizan en adelante.

Respecto al sexo con cierto predominio del femenino tanto en el grupo de pacientes controlados como en el de farmacorresistentes, sin ser significativa tal y como se menciona en la literatura.

Dentro de los grupos de edad en los pacientes controlados el más frecuente fue el de 6 a 12 años siendo más de la mitad de la población, en el rubro de farmacorresistente con mayor predominio en mayores de 12 años, es importante mencionar que los grupos de pacientes no fueron homogéneos en cuanto al número de sujetos, el hospital donde se recabó la muestra es de referencia lo cual podría explicar la diferencia a lo reportado en la literatura, estableciéndose un sesgo de recolección.

El tipo de crisis epiléptica que predominó tanto en los con rolados como en los farmacorresistentes fueron las focales con alteración del estado de conciencia aunque predominó de manera más contundente en los farmacorresistentes con un como lo reportado en otros estudios.

Se sabe que la etiología de las crisis epilépticas puede ser multifactorial donde participan factores genéticos y adquiridos, en países de primer mundo la causa principal es de origen desconocido presuntamente genético, en nuestro estudio la etiología fue de proporciones iguales en el grupo de epilepsia controlada y con mayor representación la etiología estructural en la epilepsia farmacorresistente, lo cual está en relación con complicaciones perinatales que se han reportado en grupos de pacientes de países en desarrollo.

Dentro de las hipótesis para poder explicar las alteraciones farmacodinámicas que pueden contribuir a la presencia de farmacorresistencia está la relacionada con transportadores, sosteniendo que en el foco epileptogéno habría un incremento de

la expresividad de las proteínas que transportan fármacos principalmente la glicoproteína P (PgP- ABCB1) lo que nos hace pensar que los pacientes con epilepsia farmacorresistente tendrían mayor expresividad, sin bien nuestro estudio pudo determinar que existen diversos polimorfismos el expresado con mayor frecuencia (rs2214102) se expresa tanto en el grupo de pacientes controlados y en el de epilepsia farmacorresistente, no podemos descartar la posibilidad de que esta alteración juegue o no un papel importante en el estado de refractariedad a los medicamentos ya que el tamaño de muestra es poca y por otro lado nuestro estudio es descriptivo lo que nos permite hacernos más interrogantes sobre este hecho y plantearnos la posibilidad de que estudios ulteriores pudieran arrojar información con significancia estadística.

Por otro lado, la expresión de proteína MPR2 (ABCC2) también se encontró en proporciones similares tanto en pacientes con epilepsia controlada y farmacorresistente principalmente dos de doce polimorfismos encontrados (rs4148396 y rs927344), según estudios publicados con anterioridad, la resistencia a fármacos antiepilépticos está relacionada con su expresión aumentada, lo que hace que el transporte del fármaco se encuentre fuera del foco epiléptico, lo antes mencionado no concuerda con los resultados expuestos en esta tesis, ya que, los hallazgos descriptivos no nos orientan al pensamiento de que existe una diferencia significativa en la expresividad de los polimorfismos de los genes estudiados y que éstos, estén en relación a los procesos de resistencia a los fármacos antiepilépticos, este resultado no nos parece desalentador, si bien el estudio abarca una muestra pequeña de pacientes y representa una debilidad de nuestro estudio, es un primer paso que nos abre la posibilidad de que se

amplíe la investigación con grupos homogéneos y con mayor número de pacientes, por otro lado también será necesario realizar el estudio en población sana con la finalidad de determinar si estos polimorfismos se encuentran expresados en dicha población, haciendo que carezcan de importancia clínica o de uso paraclínico como biomarcador para predecir la resistencia o sensibilidad a fármacos antiepilépticos; además los pocos estudios previos han sido analizados prácticamente solo para el uso de fenitoína, carbamazepina y fenobarbital en los esquemas de tratamiento, lo cual difiere en gran proporción de los esquemas utilizados en nuestros pacientes. Por lo que se propone que estudios posteriores se encaminen a la presencia de polimorfismos en pacientes con tratamientos específicos como son fenitoína, fenobarbital y carbamazepina que son aquellos donde se ha encontrado alteración de P-gP y reducción de sus concentraciones y/o encaminar a estudios nuevos que incluyan fármacos antiepilépticos de generaciones más recientes.

## CONCLUSIONES

- Existe la expresión de polimorfismos de las proteínas PGP (ABCB1) y MPR2 (ABCC2) tanto en pacientes con epilepsia tanto de etiología desconocida como estructural y metabólica, sin diferencia significativa en frecuencia de algún grupo.
- La expresión de polimorfismos de las de la proteínas PGP (ABCB1) y MPR2 (ABCC2) es similar tanto en epilepsia controlada como farmacorresistente.
- El tipo de epilepsia más frecuente en nuestra muestra fue la focal.
- La epilepsia estructural y de causa desconocida fueron más frecuentes en epilepsia controlada, en proporciones iguales.
- La epilepsia farmacorresistente fue más frecuente en nuestra muestra que la controlada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization (WHO). Epilepsy: epidemiology, aetiology and prognosis. 2012; (Fact sheet No. 999. Geneva, Switzerland). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en>).
2. ILAE oficial report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 2014;55:475.
3. 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.
4. Fernández S, Hernández AM.,. Mortalidad en menores de 15 años por enfermedades no transmisibles. México, 2000-2014. 2015;72:80-3.
5. Cruz M, Gallardo J, Paredes S, Legorreta J, Flores M y Andersson N. Factores asociados a epilepsia en niños en México: un estudio caso-control. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2017;74 (5):334-40.
6. Kotsopoulos AWI, Van Merode T, Kessels GHF, De Krom CTFM, Knottnerus JA. Systematic review and meta-analysis of incidence studies of epilepsy and unprovoked seizures. *Epilepsia*. 2002;43:1402–9.
7. Soto-Chávez V, Ceja-Moreno H, Soto-Mancilla JL, Pérez RD. Perfil epidemiológico de los niños con epilepsia. *Arch Invest Pediatr Mex*. 2003;3:395–400.
8. 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.
9. Pan American Health Organization. Epilepsy in Latin America. Santiago Chile. 2013;1-108.
10. Soto C, Ceja H, Soto JL, Pérez RD. Perfil epidemiológico de los niños con epilepsia. *Arch Invest Pediatr Mex*. 2003;3:395-400.
11. Espinosa CA, Sobrino F. Farmacorresistencia en epilepsia. Conceptos clínicos y neurobiológicos. *Rev Neurol*. 2015;61 (4):159-66.
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. Drug-resistant epilepsy. *N Engl J Med*. 2011;365:919-26.
14. Chapell R, Reston J, et al. Management of treatment-resistant epilepsy. *Evid Rep Technol Assess Summ*. 2003;77:1-8.
15. Hesdorffer DC, Tomson T, Benn E, Sander JW, et al. Combined analysis of risk factors for SUDEP. *Epilepsia* 2012. 52:1150-9.
16. Glauser TA. Advancing the medical management of epilepsy: disease modification and pharmacogenetics. *J Child Neurol*. enero de 2002;17:S85-93.
17. Zavala-Tecuapetla C, Sampieri A, Calderón-Guzmán D, Carmona-Aparicio L. Principales mecanismos de acción farmacológica en las crisis epilépticas difíciles de estabilizar. *Acta Pediatr Mex* 2011;32(2):125-127.
18. Escalante D, Feria IA, Ribas RM, Rayo D, Orozco S, et. al. MDR-1 and MRP2 Gene Polymorphisms in Mexican Epileptic Pediatric Patients with Complex Partial Seizures. *Front Neurol*. octubre de 2014;184.



19. Torres Zambrano M, Castillo Támara E, Camargo Ballestas JM. Resistencia farmacológica en epilepsia. *Acta Neurol Colomb* 2007; 23: 278-85.
20. Löscher W, Potschka H. Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 7-14.
21. Löscher W. Mechanisms of drug resistance. *Epileptic Disord* 2005; 7: S3-S9.
22. Targas E, Contreras G Ríos L. Tratamiento farmacológico de las Epilepsias. *Leitura Médica Ltda*. 2014.
23. Morales-Pérez M. Papel de la superfamilia ABC en la resistencia farmacológica. *Horizonte sanitario vol.16 Mayo-Agosto* 2017.
24. Cardellá L, Hernández R. *Bioquímica médica*. 2 ed, T 2. La Habana: Ecimed; 2014:377- 400.
25. Ueda K, Cornwell MM, Gottesman MM, et al. The *mdr1* gene, responsible for multidrug-resistance, codes for P-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986;141:956-62
26. Meurs I, Out R, Van Berkel TJC, van Eck M. Role of the ABC transporters ABCA1 and ABCG1 in foam cell formation and atherosclerosis. *Future Lipid* [revista en Internet]. 2008 Dec [citado 8 Jun 2016]; 3(6): 675- 87.
27. Giacomini K, Sugiyama Y. Transportadores de membrana y respuesta a los fármacos. *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 12 ed. McGraw Hill: México D.F; 2011: 89- 120
28. Villar A, del Arco C, Flórez J. Metabolismo de los fármacos. En: Flórez J. *farmacología humana*. 6 ed. Elsevier: Barcelona, 2014: 72- 82
29. Andrade D, Carlen PL. Novel antiseizure drug mechanisms. *Future neurology* [revista en Internet]. 2007 Ene [citado 10 Ene 2017]; 2(1): 273- 86
30. Seo T, Ishitsu T, Ueda N, Nakada N, Yurube K et al. ABCB1 polymorphisms influence response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. *Pharmacogenomics*; 7(4): 551- 61
31. Hilger E, Reintaler EM, Estogmann E, Hotzy Ch, Patarraia E et al. Lack of association between ABCC2 gene variants and treatment response in epilepsy. *Pharmacogenomics*; enero 2012.

## ANEXO 1

### METODOLOGÍA PARA LA SECUENCIACIÓN MASIVA

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

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

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

## ANEXO 2

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO  
(NIÑOS Y PERSONAS CON DISCAPACIDAD)



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

**Lugar y Fecha:**

**Número de registro.**

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

#### Procedimientos

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

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

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

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

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

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

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

**Confidencialidad: ¿Van a saber todos acerca de esto?** No diremos a otras personas que estas en esta Investigación y no compartiremos información sobre ti a nadie que no trabaje en el estudio de investigación. Cuando la investigación finalice, se te dirá a ti y a tus padres los resultados. La información sobre ti por la investigación será retirada y nadie si no los investigadores podrán verla.

Cualquier información sobre ti tendrá un número en vez de su nombre. Solo los investigadores sabrán cuál es tu número y se guardara la información con llave. No será compartida ni dada a nadie excepto a tus padres si lo solicitan.

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

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

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

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):

Personal de referencia. En caso de que tenga dudas sobre el estudio favor de contactar a Dra. Sandra Orozco Suarez y Dra. Iris Feria Romero, responsables del proyecto en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, en Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI. Tel. 55780240, de 8.00 a 17 horas,

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

Sé que puedo elegir participar en la investigación o no hacerlo. Sé que puedo retirarme cuando quiera.

He leído esta información (o se me ha leído la información) y la entiendo. Me han respondido las preguntas y sé que puedo hacer preguntas más tarde si las tengo. Entiendo que cualquier cambio se discutirá conmigo.

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

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

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

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

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

---

Nombre y firma de ambos padres o tutores o representante legal  
Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

---

Testigo 1

Nombre, dirección, relación y firma

---

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma.

