



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES  
PEDIATRICAS CON RETRASO SEVERO DEL NEURODESARROLLO SIN  
DIAGNOSTICO ETIOLOGICO QUE TENGAN PROBABILIDAD DE PRESENTAR  
TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACIÓN

REPORTE DE RESULTADOS DE EVALUACIÓN INICIAL

**T E S I S**

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE SUBESPECIALIDAD EN:  
**NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA**

**PRESENTA:**

DRA. MARÍA CRISTINA SALAZAR HERRERA

**TUTORES:**

DRA. MATILDE RUÍZ GARCÍA  
DRA. GLORIA HERNÁNDEZ ANTÚNEZ  
DR. IVÁN MARTINEZ DUNCKER

**TUTOR METODOLÓGICO:**

M. en C. IGNACIO MORA MAGAÑA



MÉXICO, D. F.

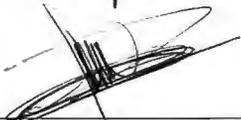
MARZO 2010

**DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES  
PEDIATRICAS CON RETRASO SEVERO DEL NEURODESARROLLO SIN  
DIAGNOSTICO ETIOLOGICO QUE TENGAN PROBABILIDAD DE PRESENTAR  
TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACION**



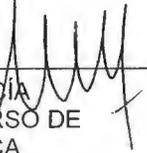
---

DR. JOSÉ N. REYNES MANZUR  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



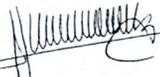
---

DRA. MIRELLA VAZQUEZ RIVERA  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSTGRADO



---

DRA. MATILDE RUIZ GARCÍA  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE  
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA  
TUTOR DE TESIS



---

DRA. GLORIA HERNÁNDEZ ANTÚNEZ  
TUTOR DE TESIS



---

M. en C. IGNACIO MORA MAGAÑA  
TUTOR METODOLÓGICO

**DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES  
PEDIATRICAS CON RETRASO SEVERO DEL NEURODESARROLLO SIN  
DIAGNOSTICO ETIOLOGICO QUE TENGAN PROBABILIDAD DE PRESENTAR  
TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACIÓN**



---

**DR. IVÁN MARTÍNEZ DUNCKER  
FACULTAD DE CIENCIAS UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS  
AUTOR DE PROTOCOLO Y  
TUTOR DE TESIS**

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios, que me ha guiado en mi camino, me ha llenado de bendiciones y por que a pesar de todo continua conmigo.*

*A Mi madre que sin su apoyo, amor y paciencia, jamás hubiera llegado a cumplir mis sueños. Gracias por tu gran ejemplo.*

*A mi padre, quien a pesar de la distancia, siempre estuvo junto a mi, ayudandome a crecer. Te amo.*

*Mis hermanos quienes me han dado su amor, fidelidad y sostén en todo momento. Gracias por crecer junto a mí.*

*A mis profesores Dra. Matilde Ruiz García, Dr. Guillermo Dávila Gutiérrez, Dra. Violeta Medina Crespo, Dra. Leticia Munive Báez, Dra. Gloria Hernández Antúnez, Dra. Patricia Herrera Mora Dra. Rosario Aguilar Silva, por sus enseñanzas y por ser parte fundamental de mi formación.*

*Al Dr. Antonio Lavalle, quien marco el antes y después en mi vida profesional. Gracias por su ejemplo de vida.*

*A mi querido Instituto Nacional de Pediatría, por haber reservado un lugar para mí, para ser un mejor médico.*

## INDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN ESTRUCTURADO</b> .....	7
<b>ANTECEDENTES</b>	
La glicosilación.....	9
Los trastornos congénitos de la glicosilación.....	9
Abordaje inicial de laboratorio (Detección de hipoglicosilación proteica.....	12
Abordaje diagnóstico subsecuente.....	14
Estrategia para la identificación de pacientes con CDG.....	15
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	16
<b>JUSTIFICACION</b> .....	16
<b>OBJETIVOS</b>	
Objetivo General.....	17
Objetivos Particulares.....	17
<b>METODOLOGIA CLINICA</b>	
Tipo de Estudio.....	17
Criterios de inclusión.....	17
Criterios de Exclusión.....	18
Tipo de muestras biológicas para la detección de hipoglicosilación proteica.....	18
Envío de muestras al laboratorio de Referencia.....	19
<b>METODOLOGIA DE LABORATORIO</b>	
Detección de hipoglicosilación proteica.....	20
Establecimiento del perfil de glicosilación global por HPLC.....	20
<b>CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA</b> .....	21
<b>ANALISIS DE RESULTADOS</b> .....	21
<b>IMPLEMENTACION DE TRATAMIENTOS</b> .....	22
Bioética Humana.....	22
Costo del estudio.....	23
<b>RESULTADOS</b> .....	24
<b>DISCUSION Y ANALISIS</b> .....	28
<b>CONCLUSIONES</b> .....	30
Referencias	

Bibliográficas.....	31
<b>ANEXOS</b>	
Formato de recolección de datos.....	32
Carta de consentimiento informado.....	36

## **DETECCION DE HIPOGLICOSILACION PROTEICA EN SUBPOBLACIONES PEDIATRICAS CON RETRASO SEVERO DEL NEURODESARROLLO SIN DIAGNOSTICO ETIOLOGICO QUE TENGAN PROBABILIDAD DE PRESENTAR TRASTORNOS CONGENITOS DE LA GLICOSILACIÓN**

Dra. Matilde Ruiz García <sup>1</sup>, Dra. Blanca Gloria Hernández Antúnez <sup>1</sup>, Dra. Cristina Salazar Herrera<sup>1</sup>, Dra. Marcela Vela Amieva<sup>3</sup> M.C. Ignacio Mora Magaña <sup>4</sup>, Dr. Iván Martínez Duncker<sup>2</sup>.

Servicio de Neurología <sup>1</sup>, Facultad de Ciencias Universidad Autónoma del Estado De Morelos<sup>2</sup>, Residente de Neurología Pediátrica, <sup>3</sup> Departamento de Genética de la Nutrición Departamento de Metodología de la Investigación <sup>4</sup>. Instituto Nacional de Pediatría. SSA. México.

### **RESUMEN ESTRUCTURADO**

**Introducción:** El retraso psicomotor severo y el retraso mental son un problemas de salud pública ya que afectan el 1-2% de la población general. Los trastornos congénitos de la glicosilación (CDG) son un grupo de enfermedades metabólicas resultantes de un defecto en la síntesis de N- y/o O\_glicanos que pueden producir dismorfias, falla de medro, retraso mental asociados o no a anomalías estructurales del cerebro. El diagnóstico de los trastornos de glicosilación se realiza mediante estudios bioquímicos y de biología molecular que determinan el perfil de glicosilación de las glicoproteínas séricas.

**Objetivo:** Identificar trastornos de la glicosilación en la población pediátrica mexicana como causa de retraso mental y del desarrollo severo de origen no determinado.

**Métodos:** Estudio transversal, epidemiológico, observacional y descriptivo. Incluye pacientes menores de 18 años con retraso mental y psicomotor severo con o sin anomalías estructurales del cerebro sin diagnóstico etiológico. Se realizarán pruebas de Western Blot e Isofocalización eléctrica para evidenciar una hipoglicosilación de la transferrina (N-glicosilación) y de la apolipoproteína-C-III (O-glicosilación) de dichos pacientes. En las muestras con hipoglicosilación proteica, se realizará un análisis estructural de glicanos por HPLC.

**Resultados.** Se evaluó un grupo de 75 pacientes, con retraso mental y del neurodesarrollo, se consignó sus características clínicas y demográficas y se les realizó detección de trastorno de la glicosilación. Se identificaron dos pacientes con CDG, uno de ellos secundario a Síndrome de Hallervorden – Spatz, y el segundo es un trastorno primario de la glicosilación proteica. Esto determina una prevalencia de 3% para esta muestra.

**Conclusiones.** Al analizar las características clínicas relacionadas a los CDG reportadas en la literatura internacional se demuestra que son semejantes a las que presentó el paciente con CDG primaria. La prevalencia obtenida en nuestro grupo estudiado es mayor que la reportada en las publicaciones internacionales, por el tipo de muestra analizada. Es importante realizar estudios multicéntricos nacionales con el fin de conocer la prevalencia a nivel nacional y establecer el diagnóstico etiológico en algunos pacientes con retraso mental severo de etiología no identificada.

## ANTECEDENTES

### **1.1 Los trastornos congénitos de la glicosilación.**

Los trastornos congénitos de la glicosilación son un grupo de enfermedades metabólicas resultantes de anomalías en la síntesis de N y/o O\_glicanos provocados por diversos defectos bioquímicos (cuadro 1).

En 1980 se reportó el primer caso mundial de un trastorno congénito de la glicosilación proteica (7), desde entonces se han descrito 35 trastornos congénitos más (Cuadro 1), afectando los dos tipos principales de glicosilación proteica: la de tipo N- (donde una N-acetil-glucosamina (GlcNAc) del glicano se une al grupo amida (N) de determinados residuos de asparagina (Asn)) y la de tipo O- (donde una N-acetil-galactosamina (GalNAc), galactosa (Gal), glucosa (Glc), manosa (Man), xilosa (Xyl) u otro monosacárido del glicano se une al grupo hidroxilo (OH) de los aminoácidos serina, treonina o lisina). Estos trastornos han sido reportados en todos los continentes y en España, en un periodo de 8 años (1997-2004), se diagnosticaron 33 pacientes con trastornos congénitos afectando la vía de la N-glicosilación (11).

Los trastornos de la glicosilación que afectan la N-glicosilación y aquellos que presentan afectación mixta (-N y -O glicosilación), se llaman **CDG**, del acrónimo inglés **C**ongenital **D**isorders of **G**lycosylation. El resto de los trastornos afectando exclusivamente distintos tipos de O-glicosilación no han sido aún clasificados. En este proyecto nos centraremos en el diagnóstico molecular de los **CDG**.

En el cuadro 2 se señalan las características clínicas principales de los CDG, distinguiendo entre aquellos que cursan con (A) y sin (B) retraso psicomotor. Se puede observar que estos trastornos presentan afectación variable de diversos sistemas incluyendo el nervioso central, músculo-esquelético, gastrointestinal, hematológico, inmune y tegumentario.

En este estudio implementaremos una estrategia selectiva para identificar CDGs en pacientes con retraso en el neurodesarrollo en vista de que la mayor parte de los CDGs cursa con esta característica, junto con dismorfia y falla de medro.

TRASTORNO	GEN	PROTEÍNA	OMIM
<b>N-glicanos</b>			
CDG-Ia	<i>PMM2</i>	Fosfomanomutasa II	212065
CDG-Ib	<i>MPI</i>	Fosfomano isomerasa	602579
CDG-Ic	<i>ALG6</i>	Dol-P-Glc: Man9GlcNAc2-PP-Dol glucosiltransferasa	603147
CDG-I d	<i>ALG3</i>	Dol-P-Man: Man5GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa	601110
CDG-Ie	<i>DPM1</i>	Dol-P-Man sintasa I	608799
CDG-I f	<i>SL15</i>	Defecto en la utilización de Dol-P-Man	609180
CDG-I g	<i>ALG12</i>	Dol-P-Man: Man7GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa	607143
CDG-I h	<i>ALG8</i>	UDP-GlcNAc: GlcNAc-PP-Dol transferasa	608104
CDG-I i	<i>ALG2</i>	GDP-Man:Man1GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa	607906
CDG-I j	<i>DPAGT1</i>	UDP-GlcNAc: Dol-P-GlcNAc-1-P transferasa	608093
CDG-I k	<i>ALG1</i>	GDP-Man:GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa	608540
CDG-I L	<i>ALG9</i>	Dol-P-Man: Man 6 y 8 GlcNAc2-PP-Dol manosiltransferasa	608776
CDG-I Ia	<i>MGAT2</i>	GlcNAcT-II	212066
CDG-I Ib	<i>GLS1</i>	Glucosidasa I	606056
CDG-I Id	<i>B4GALT1</i>	$\beta$ 1,4-galactosiltransferasa	607091
<b>Mixtos</b>			
CDG-I Ic	<i>SLC35C1</i>	Transportador de GDP-Fucosa	266265
CDG-I Ie	<i>COG7</i>	Complejo COG, subunidad 7	608779
CDG-I Ig	<i>COG1</i>	Complejo COG, subunidad 1	606973
CDG-I Ih	<i>COG8</i>	Complejo COG, subunidad 8	606979
<b>O-galactosil glicanos</b>			
Ehlers-Danlos VIa	<i>PLOD</i>	Lisil-hidroxilasa 1	225400
<b>O-xilosil glicanos</b>			
Ehlers-Danlos progeroide	<i>B4GALT7</i>	Xilosil-proteína-4- $\beta$ -galactosiltransferasa	604327
HME tipo I	<i>EXT1</i>	exostosina 1	133700
tipo II	<i>EXT2</i>	exostosina 2	133701
tipo III	<i>EXT3</i>	exostosina 3	600209
<b>O-manosil glicanos</b>			
SWW	<i>POMT1/2</i>	O-manosiltransferasa	607423
LGMD2K	<i>POMT1</i>	id.	609308
MEB	<i>POMGnT1</i>	$\beta$ 1,2-N-acetil-glucosaminiltransferasa	253280
FCMD	<i>Fukutin</i>	glicosiltransferasa putativa	253800
MDC1C	<i>FKRP</i>	glicosiltransferasa putativa	606612
LGMD2I	id.	glicosiltransferasa putativa	607155
MDC1D	<i>LARGE</i>	homólogo de la $\beta$ 1,3-N-acetil-glucoaminiltransferasa	603590
hIBM	<i>GNE</i>	UDP-GlcNAc 2 epimerasa/N-acetil-manosamina cinasa	600737
DMRV	id.	id.	605820
<b>O-N-acetil-galactosaminil glicanos</b>			
HFTC	<i>GALNT3</i>	O-GlcNAc transferasa	601756
HHS	id.	id.	211900
<b>Defectos de la sialilación de O-glicanos</b>			
CDG-I If	<i>SLC35A1</i>	Transportador de CMP-NeuAc	603585

**Cuadro 1. Distintos tipos de trastornos congénitos de la glicosilación.** Se indica el subtipo de trastorno de glicosilación junto con el gen y proteína afectados, así como el número de acceso en la base de datos OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man); CDG, Congenital Disorders of Glycosylation.

## **1.2 La glicosilación.**

**1.3** Existen dos tipos de glicosilación proteica que se llevan a cabo en los seres humanos: la enzimática y la no enzimática. La glicosilación no enzimática consiste en una serie de reacciones químicas entre el grupo carbonilo de un carbohidrato y el grupo amino de un aminoácido, esta modificación ha sido observada en proteínas dentro de un contexto de enfermedades degenerativas crónicas como la diabetes y la insuficiencia renal crónica (6,10). Por otra parte, la glicosilación enzimática, en la cual se circunscribe este proyecto, es una modificación esencial de múltiples proteínas que consiste en la unión covalente, mediada por enzimas, de oligosacáridos complejos también llamados glicanos. A diferencia de la glicosilación no enzimática, esta glicosilación participa en el correcto plegamiento de las proteínas, así como en su función, al formar parte del sitio activo e incluso como elemento regulador de la interacción proteína-receptor.

La importancia de la glicosilación celular enzimática ha sido resaltada a nivel genómico. Los bancos de secuencias sugieren que alrededor del 70% de las proteínas están potencialmente glicosiladas enzimáticamente y que al menos 1% del genoma humano transcrito está dedicado a la producción de proteínas implicadas en la síntesis, degradación y función de los glicoconjugados (2). Es por esta razón, que la glicosilación participa en funciones que van desde el desarrollo embrionario hasta la capacidad metastásica de las células tumorales (5). La importancia de la glicosilación en el desarrollo y el mantenimiento de la homeostasis en los seres humanos también se refleja en la descripción clínica y molecular de varias enfermedades causadas por una glicosilación celular aberrante conocidas como enfermedades congénitas de la glicosilación y, debido a la importancia funcional de la glicosilación en la mayor parte de los tejidos, estas enfermedades generalmente se presentan como afectaciones multi-sistémicas. (3,8).

### **1.2.1 Abordaje inicial de laboratorio (detección de hipoglicosilación proteica).**

Se debe descartar un CDG frente a toda enfermedad congénita multisistémica inexplicada, especialmente aquellas con anomalías afectando al sistema nervioso central ya que la mayor parte de los CDG presentan alguna alteración a este nivel.

El proceso de diagnóstico molecular frente a un posible CDG se inicia realizando estudios para determinar el estado de glicosilación de las glicoproteínas séricas (*N*- y *O*-). Los estudios iniciales más utilizados para determinar una hipoglicosilación proteica son aquellos basados en las técnicas de migración de proteínas séricas que permiten identificar, a través del uso de anticuerpos, isoformas proteicas anormales de *N*- y *O*-glicoproteínas. En el caso de la **técnica de Western Blot (WB)**, se identifican isoformas de bajo peso molecular debido a una reducción de su contenido glicánico. En el caso de la **técnica de isoelectroenfoque o isofocalización eléctrica (IEF)**, se identifican isoformas proteicas con tendencia catódica debido a una disminución en el contenido de ácido siálico, un carbohidrato con carga negativa que se encuentra en la porción terminal de los glicanos y que, generalmente, se encuentra ausente cuando hay defectos en la síntesis de los glicanos. Recientemente se ha utilizado un kit llamado CDT Assay (Bio-Rad) que permite evaluar rápidamente la presencia de hipoglicosilación de la transferrina (*N*-glicosilación) por lo que su uso es muy útil en la detección de CDGs, sin embargo este kit no está disponible en México.

Debido a la presencia de CDG mixtos (afectación tanto de la *N*- como la *O*-glicosilación) se recomienda que, frente a toda sospecha clínica de CDG, se realice un análisis de glicosilación que considere al menos una *N*-glicoproteína y una *O*-glicoproteína (4). Las *N*-glicoproteínas comúnmente estudiadas son la transferrina, la 1-anti-tripsina y la haptoglobina, la *O*-glicoproteína comúnmente estudiada es la apolipoproteína-C-III (ApoCIII)(12).

**Cuadro 2. Cuadros clínicos de los trastornos de la glicosilación que afectan la síntesis de los N-glicanos (CDG) y los de tipo mixto.** CDG con (A) y sin (B) retraso mental. CD15s, antígeno CD15 sialilado; CK, creatinina cinasa; hS, hiposialilada, LAD II, deficiencia de adhesión leucocitaria; MT, mielinización tardía; NCAM, molécula de adhesión de células neurales; ORL, otorrinolaringológicas; PFAPA, fiebre episódica, faringitis, estomatitis aftosa y adenitis; (-) ausente, (+) presente con severidad leve, (++) presente con severidad moderada, (+++) presente con severidad grave.

CDG	la	lc	ld	le	lf	lg	li	lj	lk	ll	lla	llb	llc	lld	lle	lig	lih
Retraso psicomotor	+→+++	+/++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-/+++	-/+++	+++	+	+	+	++
Retraso del desarrollo	+	+	+	++	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	++
Convulsiones	-→+++	-→+++	+++	+++	++	+	+	+++	+++	++	+++	+++	+	++	++	-/+	-
Hipotonía	+++	+	+	+	-	+	-	++	+	+	++	++	+	++	+++	+++	++
Estrabismo	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Esotropía
Retinopatía	++	++	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hipoplasia cerebelosa	+++	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Dismorfia	-→+++	-/+	-/+	+	+	+	+	+++	+	+	++	+++	+++	-	+++	++	+
Hepatopatía	+++	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+++	-	++	+++	++	++
Coagulopatía	++/+++	+++	+	+	-	+	+	-	++	-	+++	++	-	+++	++	-	++
Enteropatía	-/+	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-
Microcefalia	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
Otros	Neuropatía periférica, patología endocrina, cardiomiopatía, osteopenia	Infección, patología endocrina	Atrofia n.óptico	Ceguera cortical, MT	Ictiosis, enanismo, vómito	Insuf Resp., Hipo-gonadismo IgG baja, Infecciones ORL	Coloboma, cataratas, nistagmo, MT	Micro-gnathia	Hipo-gonadismo, Atrofia cerebral	Macro-cefalia, Enf.Renal quística, Asma bronquial, Atrofia cerebral	Estereo-típias, Infección	LADII, Bombay	Hidro-cefalia, Mio-patía CK ↑	Fiebre, Piel laxa, Epifisis ausente, Asfixia, MT	Atrofia cerebral	Encefalo-patía, PFAPA	

CDG	lb	lh	lif
Convulsiones	+/-	-	-
Retraso del desarrollo	-	-	-
Hipotonía	-	+	-
Dismorfia	-	+	-
Hepatopatía	+++	++	-
Coagulopatía	++/+++	++	+++
Enteropatía	+++	+++	-
Otros	Hipo-glicemia, vómitos, diarrea	Falla renal	Infecciones, Neutropenia, Macro-trombocitopenia CD15s ↓

En el caso de trastornos congénitos que afecten exclusivamente la O-glicosilación únicamente se debe recurrir a la identificación de hipoglicosilación de la proteína en cuestión o en su caso la secuenciación del gen respectivo de la enzima que se sospeche esta deficiente.

### **1.2.2 Abordaje diagnóstico subsecuente.**

Si se identifica una hipoglicosilación exclusiva de N-glicanos se sugiere descartar los CDG más frecuentes, el CDG-Ia y Ib. Si el paciente cursa con desarrollo psicomotor normal y síntomas gastrointestinales se opta por realizar el análisis enzimático de la fosfomano isomerasa (PMI) a fin de confirmar un CDG-Ib, en caso de que presente afectación psicomotora se estudia la actividad de la fosfomano mutasa (PMM) para confirmar un CDG-Ia. La disfunción enzimática de PMM ó PMI debe ser confirmada por la identificación de mutaciones de pérdida de función en el gen respectivo. En caso de que se descarten anomalías enzimáticas de PMM ó PMI y se mantenga una sospecha clínica de CDG, se procede a identificar el paso de síntesis afectado determinando la composición de los glicanos a través del análisis estructural de las glicoproteínas, esto se puede realizar por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o espectroscopia de masa, ello permite establecer, en la mayor parte de los casos, el paso de la vía de síntesis que se encuentra afectado debido a una acumulación del oligosacárido previo al paso bloqueado. Una vez identificado éste, se procede a elaborar un ensayo que mida la actividad de la proteína sospechosa y/o secuenciar el gen respectivo a fin de identificar mutaciones de pérdida de función.

Si el estudio de glicosilación inicial revela una hipoglicosilación tanto de N- como de O-glicanos se debe pensar en un CDG mixto, por lo que se procede a analizar los genes correspondientes de acuerdo a la presentación clínica (¿CDGIIc?, ¿defectos del COG?), en caso de identificar mutaciones se debe confirmar que éstas sean causantes de una disfunción enzimática. Existe una base de datos de mutaciones reportadas en pacientes afectados por CDG disponible en: <http://www.euroglycanet.org/>.

### 1.2.3 Estrategia para la identificación de pacientes con CDG.

Recientemente se ha reportado una estrategia clínica dirigida para identificar CDGs (1). La estrategia consiste en realizar estudios para identificar hipoglicosilación proteica en todo niño que presente: retraso mental, anomalías estructurales del cerebro y no cuente con un diagnóstico molecular.

Esta estrategia en Italia permitió identificar 2 CDG de tipo 1-A de 168 pacientes con dichas características en los cuales se realizaron pruebas de hipoglicosilación proteica. Es nuestra intención establecer una estrategia similar para obtener muestras biológicas de niños con dichas características a fin de detectar posibles enfermos con trastornos congénitos de la glicosilación, activando un protocolo de referencia en el servicio de neurología del INP y de acuerdo a los protocolos de diagnóstico anteriormente señalados, ver figura 1.

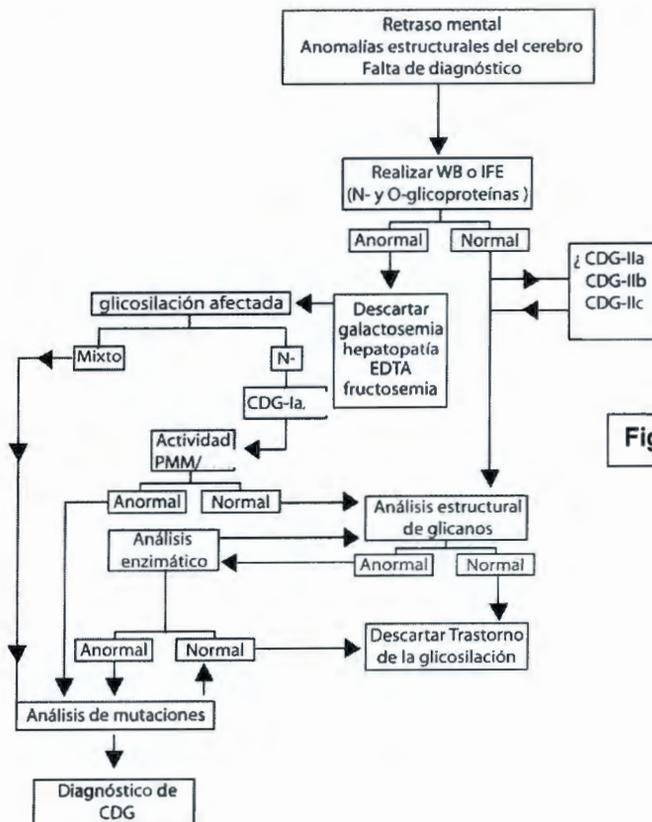


Fig. 1 Flujograma

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los CDG son en general enfermedades multisistémicas caracterizadas por un espectro amplio de síntomas que incluye retraso mental, retraso grave del desarrollo, anomalías estructurales en el sistema nervioso central, defectos cardíacos, malformaciones, alteraciones hormonales, problemas de coagulación y neuropatías periféricas. Los CDG tienen una morbilidad alta y una mortalidad importante. Todos ellos tienen una herencia autosómica recesiva.

El proyecto aquí presentado tiene como objetivo la identificación de estos trastornos en la población pediátrica mexicana utilizando una estrategia clínica que permita seleccionar a los pacientes con alta probabilidad de presentar un trastorno congénito de la glicosilación y realizar estudios especializados para iniciar el proceso diagnóstico, sobre todo en los pacientes que presentan retraso psicomotor severo, ya que se estima que del 50 al 75% de los casos no tienen una etiología específica.

La presentación clínica de estos defectos es muy variable y, por tanto, debe seleccionarse para diagnóstico diferencial de CDG a cualquier paciente con enfermedad multisistémica inexplicable.

## **JUSTIFICACION**

Las enfermedades genéticas que afectan a la biosíntesis de las glicoproteínas, constituyen un grupo de enfermedades en expansión creciente. La identificación de este tipo de defectos entre pacientes con CDG abre un campo de estudio muy importante en la glicobiología de los errores innatos del metabolismo.

Los CDG tienen una morbilidad alta y una mortalidad importante. Es importante resaltar que para varios de los defectos identificados se conocen sólo uno o muy pocos pacientes.

No existe información en nuestro conocimiento de la identificación de los trastornos congénitos de la glicosilación en población mexicana.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Detectar pacientes pediátricos con posibles trastornos congénitos de la glicosilación en pacientes con retraso psicomotor, anomalías estructurales del cerebro y que no cuenten con un diagnóstico molecular.

### **2.2. Objetivos particulares**

1. Identificar en pacientes con retraso mental y del desarrollo la presencia de CDG.
2. Identificar en pacientes con anomalías estructurales del cerebro la presencia de CDG.

## **MATERIAL Y METODO**

### ***Diseño y Tipo de estudio:***

Nuestro diseño de estudio fue concebido como un estudio transversal, observacional, prolectivo, prospectivo.

### ***Características de la población de estudio:***

#### **POBLACION**

1. **Población Objetivo:** Niños de 1 mes a 18 años de edad con retraso psicomotor o anomalías estructurales del cerebro sin diagnóstico establecido.
2. **Población Elegible:** Pacientes atendidos en los servicios de consulta externa de Pediatría y de Subespecialidades del INP en el período comprendido en una primera etapa del 1º de diciembre del 2008 al 28 de febrero del 2010 y a continuarse hasta el 31 de diciembre del 2010 por el Dr Roberto Sandoval Pacheco.

#### **CRITERIOS DE SELECCION**

##### ***Criterios de inclusión:***

1. Sujetos con edad de 1 mes a 18 años de edad.
2. Niños y niñas.
3. Todo paciente pediátrico que presente retraso psicomotor y retraso mental con anomalías estructurales del cerebro y que no cuente con un diagnóstico molecular.

**Criterios de exclusión:**

1. Pacientes que cuenten con un diagnóstico molecular establecido.

**Criterios de eliminación**

1. Que el niño(a) abandone el seguimiento clínico neurológico.
2. Transfusión de derivados sanguíneo en los treinta días previos.
3. Paciente con consumo de alcohol dos meses previos.
4. Pacientes que cursen o hayan padecido hepatitis.

Calculo de tercio de muestra.

5. Pacientes cuyas pruebas metabólicas de tamiz indiquen la presencia de un error innato del metabolismo de los aminoácidos, ácidos orgánicos o acilcarnitinas.

**Descripción del método**

Se incluirán en el estudio todos aquellos pacientes que sean atendidos en el Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia así como en las consultas de pediatría y Subespecialidad del Instituto Nacional de Pediatría, en el período señalado y que cumplan con los criterios de selección referidos previamente.

Previo consentimiento informado, a la llegada del paciente se procederá a recolectar las siguientes muestras biológicas:

- A) Dos papeles filtro con 6 gotas de sangre cada uno, para la prueba de tamiz metabólico para acilcarnitinas y aminoácidos.

Estas muestras serán entregadas en el 9º piso de la Torre de Investigación, para que se realice estudio de cuantificación de aminoácidos y de acilcarnitinas mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

Si se encuentra alguna alteración en dichos análisis, se procederá a solicitar una muestra de orina para perfil de ácidos orgánicos urinarios.

Los pacientes cuyos resultados metabólicos señalen la presencia específica de un error del metabolismo de los aminoácidos o alguna academia orgánica, serán excluidos del estudio.

Se recolectarán de cada paciente incluido en este estudio las siguientes muestras biológicas por venopunción y de acuerdo a los protocolos de higiene y seguridad establecidos las muestras en condiciones de esterilidad:

- 1) Un tubo que contenga al menos 1 ml de suero.

La muestra se centrifugará a 3000 RPM por quince minutos, para posteriormente extraer el suero.

- 2) Un tubo que contenga al menos 1 ml de plasma sin EDTA.

Inmediatamente después de su obtención, las muestras serán almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  o sólo refrigeradas a  $3-4^{\circ}\text{C}$  por un período no mayor a 24 horas, después del cual serán congeladas a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Las muestras deberán ir rotuladas con un número (al que sólo el investigador principal tendrá acceso) para asegurar la confidencialidad de los datos de identificación del paciente, acompañadas del formulario incluido como Anexo 2.

### ***3.6 Envío de muestras al laboratorio de Referencia.***

El laboratorio de referencia será el Laboratorio de Glicobiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Las muestras serán recogidas en el Instituto Nacional de Pediatría por el Investigador Responsable (Dr. Iván Martínez Duncker R.) y transportadas al laboratorio de referencia bajo condiciones óptimas de preservación, de tal manera que no se pierda la cadena de frío. La frecuencia de envíos dependerá del número de muestras disponibles y será acordado entre el investigador responsable y la jefatura del servicio de Neurología del INP. Se elaborará un documento (cadena de custodia) que detalle el número y datos de las muestras que se envían, firmada por el responsable del laboratorio que entrega y por el investigador principal que recibe o quien el designe.

## **Métodos**

Se captarán a través de la consulta externa del servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia, así como también a través de la base de datos de diagnóstico, realizando llamadas telefónicas para invitarlos a participar explicándoles los beneficios que brindará el ser incluido en el proyecto.

### ***Metodología de Laboratorio***

Una vez que las muestras estén disponibles en el laboratorio de referencia estas serán sometidas a distintos estudios cuyo objetivo será determinar la presencia de hipoglicosilación proteica.

#### ***Detección de hipoglicosilación proteica.***

Se realizarán pruebas de Western Blot e Isofocalización eléctrica para evidenciar una hipoglicosilación de la transferrina (*N*-glicosilación) y de la apolipoproteína-C-III (*O*-glicosilación), en caso de ser necesario se incluirán al análisis otras glicoproteínas de interés.

En aquellas muestras en donde se detecte hipoglicosilación proteica en comparación con muestras control, por cualquiera de los métodos antes mencionados, se someterán a un análisis estructural de glicanos por HPLC.

#### ***Establecimiento del perfil de glicosilación global por HPLC en muestras hipoglicosiladas.***

Se deglicosarán las glicoproteínas séricas utilizando hidrólisis enzimática mediada por PNGasa F (Calbiochem), posteriormente se marcarán los oligosacáridos en su extremo reductor con 2-aminobenzamida (Prozyme). Se utilizará un sistema cromatográfico de Waters con detector de fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 330 nm y de emisión de 420 nm (9). Los oligosacáridos serán separados por HPLC por dos técnicas distintas (8): 1. Intercambio aniónico débil. Se utilizará una columna de DEAE TSK-Gel (7.5 mmx7.5 cm, 10 µm, Tosh Bioscience). Como fases móviles utilizaremos formato de amonio pH 9 y agua en un gradiente lineal. 2. Fase normal. Se utilizará una columna TSK-Gel amido-80 (Tosoh Bioseciences) con formato de amonio 250 mM pH 4 y acetonitrilo como fases móviles. Utilizando un homopolímero de glucosa se asignarán unidades de glucosa a los tiempos de elusión. Las estructuras serán propuestas para cada tipo de la cromatografía, basándonos en su migración en unidades de glucosa y la susceptibilidad a las digestiones individuales por exoglicosidasas (□-manosidasa, □-galactosidasa, □-N-acetilglucosaminidasa, □-fucosidasa y sialidasa I , Prozyme) (9).

## Cálculo de tamaño de muestra

Considerando que se trata de un estudio transversal, hemos utilizado la fórmula propuesta por Lemeshow.

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)}{d^2}$$

$$Z_{1-\alpha/2} = 1.96$$

$$P = 3\%$$

$$d = 50$$

$Z_{1-\alpha/2}$  = Es el valor asociado al error tipo I.

P = Es la proporción de la población con la característica

d = Es el porcentaje de la proporción que esperamos identificar.

$$n = 497 \approx 500$$

En virtud de que las muestras obtenidas de los sujetos pueden ser inadecuadas para el procedimiento por : insuficiencia, contaminación, hemólisis, etc., se incrementará la muestra en 20% :

$$n = 600$$

## Análisis de resultados.

La información obtenida se analizará a través de una base de datos diseñada para los fines del estudio a través del programa Excell para Windows. Se efectuará análisis univariado de todas las variables mediante medidas de tendencia central y dispersión con cálculo de promedio y desviación estándar para variables numéricas con distribución Gaussiana y mediante medianas, Mínimos y máximos para variables numéricas con distribución sesgada. Las variables categóricas se describirán mediante porcentajes. Se efectuará comparación de las variables categóricas mediante chi cuadrada o prueba

exacta de Fisher, si es el caso. Se efectuará comparación de las variables numéricas mediante prueba T de Student en el caso de comparación de dos promedios o en su defecto análisis de Mann Whitney. Cuando se trate de comparar tres o mas promedios se utilizará ANOVA de una vía o en su defecto análisis de Kruskall Wallis.

Se calcularán los valores de utilidad diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo), así como las ganancias postprueba y likelihood ratio positivo y negativo.

### ***Reporte de Resultados***

Se reportará a la jefatura del Servicio de Neurología y al Laboratorio de trastornos metabólicos los resultados de los análisis realizados con los datos experimentales pertinentes así como cualquier indicación que permita circunscribir el posible diagnóstico molecular, así mismo se solicitará, en caso de ser necesario, materiales biológicos (sangre, biopsias, etc.) que se requieran en caso de que se desee proseguir al diagnóstico molecular final, previo informe al familiar y obtención del consentimiento. El tiempo promedio entre la entrega de muestras y el reporte de resultados será de 1 mes.

### **6. Implementación de tratamientos.**

En caso de realizar un diagnóstico de CDG se ofrecerá asesoría experta a los médicos tratantes para implementar el tratamiento sustitutivo en caso de haberlo.

#### **Bioética humana**

La obtención de muestras biológicas necesarias para la determinación de hipoglicosilación proteica será realizada bajo el consentimiento informado de los padres y en respeto a las leyes y normas vigentes establecidas en la Ley General de Salud y el Reglamento de la L.G.S. en Materia de Investigación así como acatando los estándares bioéticos internacionales. El comité de Ética del Instituto Nacional de Pediatría fijó los requerimientos necesarios para la realización de este protocolo.

Este proyecto fue aprobado y avalado por el comité de investigación del INP el día 10 de Marzo de 2009 con número 2472009 y por el comité de ética del INP el día 28 de Enero de 2009 con número CE/038/2009

## **7. Costo del estudio y publicación de resultados.**

Ninguna parte involucrada en el diagnóstico molecular de estos trastornos cobrará por los estudios requeridos para establecer la hipoglicosilación proteica ni por aquellos estudios que se requiera realizar para establecer un diagnóstico molecular final. Las publicaciones o conferencias que sean realizadas utilizando resultados derivados de este protocolo serán previamente acordados entre el investigador principal y los investigadores asociados.

## RESULTADOS

Se estudió una población de 75 pacientes, durante el período comprendido entre diciembre del 2008 a febrero 2010, en el servicio de Neurología Pediátrica del Instituto Nacional de Pediatría. Se incluyeron pacientes que tuvieran retraso del neurodesarrollo, sin diagnóstico etiológico del mismo, obteniendo los resultados que a continuación se describen.

Del total de la muestra 47% eran del sexo masculino y 53% sexo femenino. La edad a la evaluación de los pacientes estuvo comprendida entre 4 meses a 219 meses al momento de la evaluación. Con una media de 59.2 meses, y una desviación estándar de 53.9 meses.

Se buscaron características en cuanto al fenotipo general de los pacientes encontrando que 37/75 pacientes tenían microcefalia y únicamente 2/75 presentaron macrocétnea; 29/75 tenían dismorfias menores que no correspondía algún diagnóstico sindromático, 10/75 contaban con antecedente de ictericia neonatal y 5/75 con pezones invertidos, ningún paciente presentó con acumulación de grasa glútea anormal.

De las alteraciones clínicas del sistema nervioso, 100% presentaron retraso del neurodesarrollo, 39% con espasticidad, 64% con hipotonía y el 15% tenían ambas. Otras alteraciones neurológicas como neuropatía periférica en el 13% y 9% tuvieron síndrome extrapiramidal. Las crisis convulsivas se detectaron en el 55%. El tipo de crisis se describe en la cuadro 1.

**Cuadro No. 1 Tipo de Crisis**

TIPO DE CRISIS	N(%)
Parciales	34(83)
Parciales simples	0(0)
Parciales complejas	20(60)
Parciales secundarias generalizadas	14(42)
Complejas, secundarias generalizadas	2(6)
Generalizadas	16(39)

Las alteraciones oftalmológicas fueron poco frecuentes destacan: estrabismo 7/75, retinitis pigmentosa 2/75, coloboma 1/75, y otras varias lo que determina una tasa del para estrabismo de 70 x 1000 habitantes, 20 x 1000 habitantes para retinitis pigmentosa, para coloboma una tasa de 10 x 1000 habitantes, y otras alteraciones varias de 110 x 1000 habitantes.

Las anomalías cardíacas fueron aisladas, 8/75 pacientes lo presentaron. De las alteraciones gastrointestinales, el vómito se presentó en 16/75 pacientes. Diarrea, hepatomegalia, enzimas hepáticas alteradas solo 1/75 pacientes lo presentaron; fibrosis hepática 2/75 pacientes y no hubo ningún paciente con esplenomegalia.

Dentro de las características inmunohematológicas de este grupo de pacientes únicamente las infecciones del sistema respiratorio fueron las más frecuentes con un 41%, la trombosis sólo en un 3% y fiebre recurrente en 1%. No existieron reportes de hemorragias, trombocitopenia o alteraciones de la biometría hemática.

En cuanto a alteraciones renales, no se reportaron cálculos ni quistes renales, solo 1/75 con riñones pequeños para su edad. Las anomalías endocrinológicas también fueron pocas 1/75 con hipoglucemia, 1/75 con hipogonadismo y 5/75 con otras endocrinopatías como hipotiroidismo, talla baja y obesidad.

A nivel genético, se explican las anomalías encontradas en la cuadro 2.

**Cuadro No. 2 Hallazgos de importancia genética**

ALTERACIONES	N(%)
Anomalías cromosómicas	0(0)
Consanguinidad	9(12)
Familiares con cuadro similar	20(27)
Muertes tempranas(<6meses)	9(12)
Historia de abortos	8(10)

Sólo 23/75 pacientes contaban con tamiz ampliado, 4/23 el resultado era anormal específico para aminoacidopatías.

También se analizaron los estudios de gabinete, se encontró que 89% contaron con un estudio de imagen. De estos el 48% tenían TAC de encéfalo, 87% imagen de resonancia magnética cerebral y 34% contaban con ambos estudios. Las anomalías estructurales encontradas se resumen en la cuadro No. 3.

**Cuadro No. 3 Anomalías estructurales en estudios de imagen.**

ANOMALÍA ESTRUCTURAL	IRM N(%)	TAC N(%)
Normal	9(12)	8(12)
Atrofia generalizada	35(47)	15(22)
Lesiones clásticas	5(7)	2(3)
Desmielinización	11(15)	1(1)
Lisencefalia	0(0)	0(0)
Paquigiria	1(1)	1(1)
Alteraciones del cuerpo caloso	6 (8)	6(9)
Displasia compleja	5(7)	4(6)
Alteraciones en ganglios basales	4(5)	1(1)

Los estudios de neurofisiología fueron los siguientes.

**Cuadro No.4 Estudios de neurofisiología**

ESTUDIO	N(%)
EEG	48(64)
PEATC	39(52)
PEV	28(37)
PESS	11(15)
VCN	15(20)

A su vez los resultados de EEG se encontraron de la siguiente forma:

**Cuadro No. 4 Características del EEG**

EEG	N(%)
Normal	6(12)
Encefalopatía difusa no paroxística	14(19)
Paroxístico focal	1(1)
Paroxístico multifocal	20(27)
Paroxístico generalizado	2(2)

Con respecto a los resultados para detección de CDG, se obtuvieron sólo dos positivos, uno de ellos secundario ya que el paciente tiene diagnóstico de base de Síndrome de Hallervorden –Spatz, y el segundo paciente positivo se trata de un trastorno primario de la glicosilación proteica. Teniendo un prevalencia de 3% para este grupo de pacientes.

## DISCUSIÓN Y ANÁLISIS

Las características clínicas presentes en los CDG permiten sospechar la posibilidad de padecer alguna de estas alteraciones, ya que los CDG tienen una afección multisistémica inexplicable, donde el retraso severo del neurodesarrollo es constante, debido a ello este fue el principal criterio de inclusión diagnóstica.

A nuestro conocimiento no existen trabajos previos en México respecto a la prevalencia de este grupo de patologías por lo que los resultados que aquí se obtuvieron son importantes.

La prevalencia de los CDG en este estudio es de 20 x 1000, lo que comparado con los reportes de otros países como Italia, en la que se han detectado 2 pacientes en 168 estudiados (11 x 1000) (1) y en un estudio realizado en España y Portugal (6 x 1000), es mayor (13). Lo anterior pone de manifiesto la importancia que tiene en nuestro país, la identificación de esta patología, ya que solo en esta muestra ha identificado sujetos con una tasa más alta que en el resto del mundo.

Debido que contamos con una gran cantidad de pacientes con características clínicas que nos hacen sospechar CDG, debemos incluir el estudio específico para esta enfermedad, pues muchos de estos pacientes no cuentan con un diagnóstico etiológico.

Hasta este momento la prevalencia comentada anteriormente es real aunque subestima la realidad, pues este estudio se llevó a cabo sólo en este Instituto.

En los pacientes identificados con CDG, en esta muestra, no hay antecedentes de consanguinidad o endogamia, así como tampoco antecedentes heredofamiliares de la enfermedad o de cuadros similares. Es deseable el estudio molecular en búsqueda de las mutaciones responsables.

Los estudios publicados internacionalmente (Italia, España y Portugal), reportan características clínicas de los pacientes con CDG (retraso del neurodesarrollo, epilepsia, talla baja, dismorfias, etc.) que son las similares a nuestros pacientes presentaron.

Dada la tasa prevalente identificada, es necesario que el pediatra o el médico de primer contacto con los pacientes portadores de características clínicas (retraso mental, hipotonía, dismorfias menores, epilepsia) pueda descartar esta patología en dichos pacientes, pues la morbimortalidad asociada a la CDG es elevado.

## CONCLUSIONES

1. Se detectan pacientes con retraso mental y del neurodesarrollo sin diagnóstico etiológico, mismos que se les realiza detección de CDG como una posibilidad etiológica del cuadro clínico que presentan.
2. El grupo estudiado tiene una prevalencia del 3%, (2 de los 75).
3. Las características clínicas relacionadas a los trastornos congénitos de la glicosilación reportadas en la literatura internacional son las mismas que presentaron los pacientes detectados con CDG.
4. La prevalencia obtenida en nuestro grupo estudiado es mayor que la reportada en las publicaciones internacionales.
5. Es importante realizar estudios multicéntricos con el fin de establecer una prevalencia a nivel nacional.
6. Se deberá ofrecer la detección de CDG a todo aquel paciente con retraso mental o del neurodesarrollo y/o con alteraciones sistémicas que no cuenten con un diagnóstico etiológico.
7. Es importante sensibilizar a los médicos pediatras y médicos de primer contacto debido a la alta tasa de prevalencia presente en nuestro grupo estudiado.

## REFERENCIAS

1. Biffi, S., G. Tamaro, et al. (2007). "Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) as a biochemical tool for the screening of congenital disorders of glycosylation (CDGs)." Clin Biochem **40**(18): 1431-4.
2. Bohne, A. and C. W. von der Lieth (2002). "Glycosylation of proteins: a computer based method for the rapid exploration of conformational space of N-glycans." Pac Symp Biocomput: 285-96.
3. Eklund, E. A. and H. H. Freeze (2006). "The congenital disorders of glycosylation: a multifaceted group of syndromes." NeuroRx **3**(2): 254-63.
4. Foulquier, F., E. Vasile, et al. (2006). "Conserved oligomeric Golgi complex subunit 1 deficiency reveals a previously uncharacterized congenital disorder of glycosylation type II." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(10): 3764-9.
5. Hakomori, S. (2002). "Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(16): 10231-3.
6. Henle, T. and T. Miyata (2003). "Advanced glycation end products in uremia." Adv Ren Replace Ther **10**(4): 321-31.
7. Jaeken, J., M. Vanderschueren-Lodeweyckx, et al. (1980). "Familiar psychomotor retardation with markedly fluctuating serum prolactin, FSH and GH levels, partial TBG deficiency, increased serum arylsulphatase A and increased CSF protein: a new syndrome? ." Pediatr Res(14): 179.
8. Kanagawa, M. and T. Toda (2006). "The genetic and molecular basis of muscular dystrophy: roles of cell-matrix linkage in the pathogenesis." J Hum Genet.
9. Serrato, J. A., L. A. Palomares, et al. (2004). "Heterogeneous conditions in dissolved oxygen affect N-glycosylation but not productivity of a monoclonal antibody in hybridoma cultures." Biotechnol Bioeng **88**(2): 176-88.
10. Ulrich, P. and A. Cerami (2001). "Protein glycation, diabetes, and aging." Recent Prog Horm Res **56**: 1-21.
11. Vilaseca, M. A., R. Artuch, et al. (2004). "[Congenital disorders of glycosylation: state of the art and Spanish experience]." Med Clin (Barc) **122**(18): 707-16.
12. Wopereis, S., S. Grunewald, et al. (2007). "Transferrin and apolipoprotein C-III isofocusing are complementary in the diagnosis of N- and O-glycan biosynthesis defects." Clin Chem **53**(2): 180-7.
13. Pérez C.C., et al (2008) "Screening Using Serum Percentage of carbohydrate-Deficient Transferrin for Congenital Disorders of Glycosylation in Children with Suspected Metabolic Disease" Clin Chem **54**(1) 93-100.



21. Hipotonía (0:No, 1:Sí) .....
22. Neuropatía Periférica (0:No, 1: Sí) .....
23. Síndrome extrapiramidal (0 No, 1 Sí):.....
24. Desarrollo Psicomotor ( edad en meses en Denver al momento de Evaluación).....
- 25.Crisis Convulsivas (0:No, 1: Sí ).....
- 26.Edad de inicio (en meses).....
27. Tipo de crisis:
- 28.Parciales: (0:No, 1: Sí).....
- Tipo de crisis parcial :.....
- 0: simples 1: complejas 2: secundariamente generalizadas
29. Generalizadas (0:No, 1: Sí).....
30. Síndrome epiléptico:.....
- 0: Otahara 1:West 2: Lennox Gastaut 3:Doose 4: Otro 5: No sindromático
31. Tratamiento (0: moniterapia; 1:Politerapia).....

### **Anomalías Oftalmológicas**

32. Retinitis pigmentosa (0:No, 1:Sí) .....
33. Estrabismo(0:No, 1:Sí) .....
34. Coloboma (0:No, 1:Sí) .....
35. Otras alteraciones (0:No, 1:Sí) .....

### **Anomalías Cardíacas**

36. Cardiopatía (0:No, 1:Sí) .....
- Describe.....

### **Anomalías Gastrointestinales**

37. Vómito (0:No, 1:Sí) .....
38. Diarrea (0:No, 1:Sí) .....
39. Hepatomegalia (0:No, 1:Sí) .....
40. Enzimas Hepáticas alteradas (0:No, 1:Sí) .....
41. Esplenomegalia (0:No, 1:Sí) .....
42. Fibrosis Hepática(0:No, 1:Sí) .....

### **Anomalías Inmunoematológicas**

43. Infecciones recurrentes (0:No, 1:Sí) .....
44. Fiebre Periódica (0:No, 1:Sí) .....
45. Trombosis (0:No, 1:Sí) .....
46. Hemorragia (0:No, 1:Sí) .....

47. Trombocitopenia (0:No, 1:Si) .....
48. Alteración de biometría Hemática (0:No, 1:Si) .....
- Cual.....

### Anomalías Renales

49. Quistes Renales (0:No, 1:Si) .....
50. Cálculos Renales (0:No, 1:Si) .....

### Anomalías Endocrinológicas

51. Hipoglicemia (0:No, 1:Si) .....
52. Hipogonadismo (0:No, 1:Si) .....
- Otra endocrinopatía:.....

### Genética

53. Anomalías cromosómicas (0:No, 1:Si) .....
54. Consanguinidad (0:No, 1:Si) .....
55. Familiares con cuadro similar (0:No, 1:Si) .....
56. Muertes tempranas (menores de 6 meses) (0:No, 1:si).....
57. Historia de abortos (0:No, 1:si).....
58. Tamiz ampliado, Aminoácidos, Ácidos orgánicos, Cromatografía (0: No; 1:Si).....
59. Resultado de tamiz (0: normal; 1: anormal).....

### Imagen

60. Cuenta con estudio de imagen (0: No; 1 :Si).....
61. TAC (0: No; 1: Si).....
62. IRM: (0:No; 1: Si).....
63. Resultados: .....
- 0:Normal 1:atrofia generalizada 2: lesiones clásticas 3: desmielinización  
4:lisencefalia 5: paquigiria, 6:polimicrogiria,7:alteraciones de cuerpo calloso  
8:displasia compleja

### neurofisiología

64. EEG (0: No tiene; 1: Si tiene).....
65. Resultados:.....
- 0:normal 1: encefalopatía difusa no paroxístico 2: paroxismos generales  
3: paroxístico focal 4: paroxístico multifocal
66. Potenciales evocados auditivos de tallo cerebral (0: No, 1: Si).....
67. Potenciales evocados visales (0: No; 1: Si).....
68. Potenciales evocados somatosensoriales (0:No, 1:Si).....
69. Velocidades de Conducción Nerviosa( 0:No; 1: Sí).....

**OBSERVACIONES DE INTERES**

Nombre y firma de la persona que recolecto la información

Fecha: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_



Se me ha explicado que si me rehúso a que mi hijo participe en el estudio de igual manera se le brindaran todas las atenciones que mi hijo requiera y que igualmente tengo todo el derecho a solicitar retirar a mi hijo del estudio así como la muestra que se recolectó en el momento que yo lo desee sin que esto repercuta en la calidad de atención hacia mi hijo.

Este estudio ha sido evaluado y aprobado por los Comites de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Pediatría. Si tengo alguna duda puedo comunicarme libremente con el Dr. Alberto Olaya Vargas Presidente del Comité de Ética al 10840900 ext 1571 y/o con la Dra Matilde Ruiz García investigadora responsable al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia al 10840900 ext 1358.

Se me ha hecho saber que la información recolectada será de tipo confidencial y que en ningún momento se publicará con alusión específica al nombre de mi hijo.

Atentamente:

---

Nombre y firma del padre o tutor

---

Nombre y firma del padre o tutor

---

Nombre y firma del Testigo

---

Nombre y Firma del Testigo

---

Nombre y firma del Investigador responsable  
Dra. Matilde Ruiz García