

Estudio clínico genético en pacientes con complejo de esclerosis tuberosa

Clinical and genetic study patients with tuberous sclerosis complex

Carla Rubilar^{a,b}, Francisca López^a, Mónica Troncoso^a, Andrés Barrios^{a,b} y Luisa Herrera^b

^aServicio de Neuropsiquiatría Infantoyjuvenil, Hospital Clínico San Borja-Arriarán, Santiago, Chile

^bPrograma de Genética Humana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Recibido el 2 de marzo de 2016; aceptado el 1 de agosto 2016

Resumen

Introducción: El complejo de esclerosis tuberosa (CET) es una enfermedad autosómica dominante multisistémica producida por mutaciones en los genes supresores de tumores *TSC1* o *TSC2*. **Objetivo:** Caracterizar clínica y genéticamente pacientes pediátricos con diagnóstico de CET. **Pacientes y Método:** Estudio descriptivo de registros clínicos de 42 pacientes pediátricos controlados en un servicio de neuropsiquiatría infantil con diagnóstico de CET y estudio genético en 21 de ellos. Se amplificó por reacción en cadena de la polimerasa y secuenció el exón 15 del gen *TSC1* y los exones 33, 36 y 37 del gen *TSC2*. Se analizó la relación entre las mutaciones encontradas con la severidad y evolución clínica. **Resultados:** En el 61,9% de los pacientes las manifestaciones comenzaron antes de los 6 meses de edad. Las manifestaciones iniciales de CET más frecuentes fueron las crisis convulsivas (73,8%) y el hallazgo de rabdomiomas cardíacos (16,6%). Durante su evolución, todos los pacientes presentaron compromiso neurológico; el 92,9% presentó epilepsia. Todos los pacientes presentaron máculas hipomelanóticas, 47,6% pangiofibromas faciales, 23,8% parches de Shagreen, 47,6% rabdomiomas cardíacos y 35,7% hamartomas retinianos. El estudio genético realizado a 21 pacientes identificó 2 mutaciones heterocigotas patogénicas en *TSC1* y una en *TSC2*. Este último paciente presentaba un fenotipo clínico más severo. **Conclusiones:** Las manifestaciones neurológicas y dermatológicas fueron las más frecuentes en los pacientes con CET. Se identificaron 2 mutaciones patogénicas en el gen *TSC1* y una en el gen *TSC2*. La mutación en *TSC2* se manifestó en un fenotipo clínico más severo.

Palabras clave:
Complejo esclerosis tuberosa;
Astrocytomas subependimarios de células gigantes;
Epilepsia; Niños;
Túberes;
Hamartomas.

Abstract

Introduction: Tuberous sclerosis complex (TSC) is a multisystem autosomal dominant disease caused by mutations in the tumor suppressor genes *TSC1* or *TSC2*. **Objective:** To characterize clinically and genetically patients diagnosed with TSC. **Patients and Method:** Descriptive study of clinical records of 42 patients from a pediatric neuropsychiatry department diagnosed with TSC and genetic

Keywords:
TSC; SEGA;
Epilepsy;
Children;
Tubers;
Hamartoms.

Correspondencia:
Andrés Barrios
andres.agba@gmail.com

Luisa Herrera
lherrera@med.uchile.cl

study in 21 of them. The exon 15 of *TSC1* gene and exons 33, 36 and 37 of *TSC2* gene were amplified by polymerase chain reaction and sequenced. The relationship between the mutations found with the severity and clinical course were analyzed. **Results:** In 61.9% of the patients the symptoms began before 6 months of age. The initial most frequent manifestations of TSC were new onset of seizures (73.8%) and the detection of cardiac rhabdomyomas (16.6%). During the evolution of the disease all patients had neurological involvement; 92.9% had epilepsy. All patients presented hypomelanotic spots, 47.6% facial angiofibromas, 23.8% Shagreen patch, 47.6 heart rhabdomyomas and 35.7% retinal hamartomas. In the genetic study of 21 patients two heterozygous pathogenic mutations in *TSC1* and one in *TSC2* genes were identified. The latter had a more severe clinical phenotype. **Conclusions:** Neurological and dermatological manifestations were the most frequent ones in patients with TSC. Two pathogenic mutations in *TSC1* and one in *TSC2* genes were identified. The patient with *TSC2* mutation manifested a more severe clinical phenotype.

Introducción

El complejo esclerosis tuberosa (CET) es un trastorno neurocutáneo de base genética. Se caracteriza por afectación multisistémica, con formación de hamartomas en diversos órganos incluyendo: cerebro, corazón, piel, ojos, riñón, pulmón e hígado¹. Las incidencias reportadas en diferentes estudios son de 1/6.000-1/10.000 nacidos vivos²⁻⁴. El fenotipo de CET es muy diverso^{5,6} y la expresión clínica presenta una estrecha relación con la edad.

Más del 85% de los pacientes presentan alteraciones del sistema nervioso central (SNC), incluyendo epilepsia, déficit cognitivo, trastornos conductuales, autismo y distintos tipos de lesiones cerebrales. En más del 88% de los pacientes se producen túberes corticales, variables en tamaño y número, los que persisten durante toda la vida y no se malignizan. Estas lesiones se han asociado al desarrollo de epilepsia refractaria y discapacidad intelectual⁷⁻¹⁰. El compromiso cutáneo está dado por máculas hipopigmentadas en el 90-98% de los pacientes y angiofibroma facial en el 75%, entre otras lesiones^{5,11-14}. En el corazón la principal lesión encontrada corresponde al rhabdomicoma, generalmente de evolución benigna y con tendencia a la regresión completa durante la infancia. Suele ser asintomático, aunque puede asociarse a arritmias cardíacas, obstrucción al tracto de salida y enfermedad cardioembólica^{15,16}. El compromiso pulmonar corresponde a la linfangioleiomiomatosis, la cual afecta principalmente a mujeres. Estudios recientes sugieren que el compromiso pulmonar puede aumentar con la edad llegando a afectar al 80% de mujeres con CET a los 40 años¹⁷. El compromiso renal se presenta en el 80% de los casos e incluye los angiomiolipomas (AML) y quistes renales. Los AML tienden a aumentar en número y tamaño con la edad. Las complicaciones renales son la principal causa de muerte en CET, ya sea por hemorragia de AML o por

insuficiencia renal¹⁸⁻²¹. Se pueden encontrar también distintos tipos de lesiones en el hígado, como lipomas, hamartomas, fibromas y AML, que se comportan de manera similar que en el riñón, pero con un crecimiento más lento y sin riesgo de muerte por sangrado²².

El CET presenta un patrón de herencia autosómica dominante con expresividad variable, heterogeneidad genética y alélica. Es causado por mutaciones en los genes supresores de tumores *TSC1* y *TSC2*. El gen *TSC1* se localiza en el cromosoma 9 en la banda 9q34 y codifica para la proteína hamartina de ~53 kb. El gen *TSC2* se localiza en el cromosoma 16 en la banda 16p13.3 y codifica para la proteína tuberina de 40.7 kb²³. Existen más mutaciones reportadas en *TSC2* que en *TSC1*, con al menos 405 mutaciones en *TSC1* y 1.128 en *TSC2*²³. En el 15% de los casos de CET no es posible identificar una mutación usando métodos convencionales de secuenciación. Existe una concentración mayor de mutaciones en los exones 15 de *TSC1* y 33, 36 y 37 de *TSC2*²⁴. Las mutaciones en *TSC2* serían 5 veces más frecuentes que en *TSC1* en los casos esporádicos. En los casos familiares la relación sería 1:1²⁴.

Para la aparición de CET se requiere que uno de los 2 alelos de *TSC1* o *TSC2* esté inactivo, sin embargo en algunos tejidos además se produce inactivación del segundo alelo (pérdida de heterocigocidad)²⁵. Existe mayor evidencia de pérdida de heterocigocidad en AML renales y menor en astrocitomas subependimarios de células gigantes (SEGA por su sigla en inglés). Hay tumores en los que no se ha observado pérdida de heterocigocidad (túberes corticales y fibromas ungueales), lo que sugiere la existencia de otros mecanismos involucrados como por ejemplo haploinsuficiencia. Las proteínas hamartina y tuberina forman un dímero citoplasmático que actúa a través de la proteína *Ras homolog enhanced in brain* (Rheb), que regula positivamente su actividad GTPasa y disminuye la estimulación de mTOR^{26,27}. mTOR

es una serina/treonina quinasa que cumple funciones reguladoras centrales de muchas vías de señalización, incluyendo regulación de proliferación, tamaño/crecimiento celular, traducción, metabolismo, autofagia, angiogénesis y supervivencia en respuesta a la disponibilidad de nutrientes (glucosa y aminoácidos). Varios estudios que han analizado la relación entre genotipo y fenotipo han descrito que los pacientes con mutaciones del gen *TSC2* presentan una evolución con síntomas más severos^{11,12,28}.

El objetivo de este estudio fue analizar la relación entre las mutaciones encontradas con las características clínicas de los pacientes. Este es el primer estudio clínico-genético en CET realizado en Chile.

Pacientes y Método

Estudio aprobado por el Comité de Ética del Servicio de Salud Metropolitano Central. Los pacientes adultos y los padres de los pacientes pediátricos fueron informados acerca de este estudio y fueron invitados a participar, luego de lo cual firmaron un documento de consentimiento informado.

Caracterización clínica

Descripción de 42 pacientes con CET controlados en el Servicio de Neuropsiquiatría Infantil del Hospital Clínico San Borja Arriarán desde 1989 hasta 2013. Se analizaron los antecedentes clínicos y exámenes complementarios realizados (electroencefalograma [EEG], estudios radiológicos, ultrasonográficos y oftalmológicos). Los datos recolectados de los registros clínicos fueron: género, antecedentes familiares de CET, edad de presentación de síntomas o signos de la enfermedad, y síntomas o signos que motivaron la consulta a neurología infantil. También se incluyó la caracterización del compromiso neurológico, especificando el nivel de desarrollo psicomotor, las conductas autistas y la epilepsia. Se realizó una detallada caracterización del fenotipo epiléptico, incluyendo la edad promedio del inicio de las crisis, el tipo de síndrome epiléptico y la respuesta a fármacos antiepilepticos. Se analizaron las lesiones características de la enfermedad encontradas en las neuroimágenes y en otros órganos afectados.

Análisis genético

El análisis genético se realizó en 21 pacientes que aceptaron participar en el estudio, 2 de ellos estaban emparentados (madre e hijo). Se obtuvo una muestra de sangre periférica para extraer ADN²⁹ y se amplificó mediante PCR el exón 15 del gen *TSC1* y los exones 33, 36 y 37 del gen *TSC2*. Los productos amplificados por PCR fueron enviados a secuenciar a la empresa biotecnológica Macrogen (Seúl, Corea).

Resultados

Características generales

Se estudiaron 42 pacientes con diagnóstico clínico de CET. De ellos, 24 (57%) fueron de sexo masculino y 18 (43%) de sexo femenino. Solo 6 pacientes (14,3%) tenían antecedente familiar de CET. En 7 (17%) de los pacientes los síntomas y signos de CET se iniciaron antes de la semana de vida, en 26 (61,9%) pacientes se iniciaron antes de los 6 meses de edad, mientras que en 35 (83,3%) pacientes las manifestaciones clínicas fueron evidentes antes de los 12 meses de vida. En 31 pacientes (73,8%) la manifestación inicial de la enfermedad fueron crisis epilépticas y en 7 pacientes (16,6%) fue la presencia de rabdomiomas cardíacos. Dos pacientes (4,8%) consultaron por retraso del desarrollo psicomotor (RDSM) y 2 (4,8%) por lesiones cutáneas.

Manifestaciones neurológicas

Todos los pacientes presentaron compromiso neurológico, incluyendo RDSM, epilepsia y/o lesiones cerebrales características de CET. El RDSM se presentó en 31 pacientes (73,8%), en 25 (59,5%) pacientes el RDSM fue severo, mientras que en 6 (14,3%) fue leve. Doce pacientes (28,6%) presentaron conductas autistas y 39 (92,9%) evolucionaron con epilepsia (tabla 1). La edad promedio del inicio de crisis epilépticas fue de 11,6 meses (rango: 2-84 meses). De los 39 pacientes que presentaron epilepsia, 19 (48,7%) evolucionaron con espasmos infantiles y 2 (5,1%) con síndrome de Lennox-Gastaut, siendo la evolución final de todos ellos hacia un síndrome epiléptico focal sintomático (tabla 1). En la mayoría de los casos la epilepsia fue de difícil manejo, requiriendo múltiples cambios de esquemas antiepilepticos y terapias de 2 o 3 fármacos asociados.

Cuarenta de los 42 pacientes contaban con neuroimagen. A 23/40 pacientes se les realizó tomografía axial computarizada (TAC) cerebral y resonancia nuclear magnética (RNM) cerebral, 12/40 contaban solo con TAC y 5/40 contaban solo con RNM. En general, en las neuroimágenes se encontraron hallazgos compatibles con CET en 38 pacientes. En la TAC se observaron nódulos subependimarios (NSE) en 16 pacientes, calcificaciones subependimarias en 17 pacientes, túberes corticales en 14 pacientes y en 6 pacientes no se observaron alteraciones.

Todos los pacientes que contaban con RNM cerebral presentaron al menos un tipo de lesión característica de CET en ese tipo de estudio. En la RNM cerebral se observaron NSE en 20 pacientes, túberes corticales en 22 pacientes, SEGA en 2 pacientes y lesiones de sustancia blanca características de CET en 4 pacientes (tabla 1). En 5 de los 23 pacientes que contaban con TAC y RNM cerebral, la TAC fue normal y la RNM presen-

Tabla 1 Manifestaciones neurológicas y hallazgos de neuroimágenes en los pacientes con CET

Manifestaciones neurológicas	Pacientes N (%)	Neuroimágenes	Pacientes N
Pacientes con manifestaciones neurológicas	42	Total de pacientes con neuroimagen	40
RDSM	31 (73,8)	Neuroimagen compatible CET	38
RDSM leve	6 (14,3)	Total de pacientes con TAC	35
RDSM severo	25 (59,5)	TAC normal	6
RDSM predominio lenguaje	14 (33,3)	Nódulos subependimarios	16
Trastorno del espectro autista	12 (28,6)	Calcificaciones subependimarias	17
Epilepsia	39 (92,9)	Túberes corticales	14
Epilepsia		Total de pacientes con RNM	28
Total de pacientes con epilepsia	39	RNM normal	0
Edad promedio inicio de crisis (meses)	11,6	Nódulos subependimarios	20
Espasmos infantiles	19 (48,7)	Túberes corticales	22
Síndrome de Lennox-Gastaut	2 (5,1)	SEGA	2
Síndrome epiléptico focal sintomático	39 (100)	Lesiones de sustancia blanca	4

Porcentaje entre paréntesis. CET: complejo esclerosis tuberosa; RDSM: retraso de desarrollo psicomotor; RNM: resonancia nuclear magnética; SEGA: astrocitoma subependimario de células gigantes (sigla en inglés); TAC: tomografía axial computarizada.

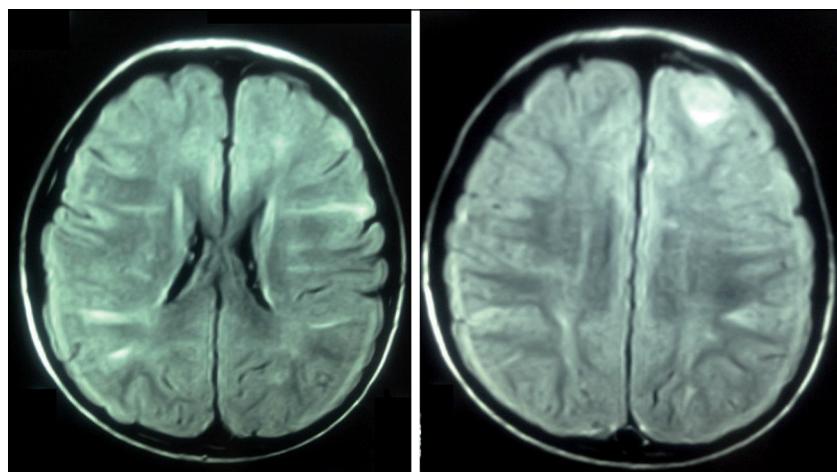


Figura 1. Imágenes de resonancia magnética cerebral (RNM) en un paciente con complejo de esclerosis tuberosa (CET). Corte axial de RNM cerebral (FLAIR) en paciente con CET, donde se observan bandas radiales hiperintensas en ambos hemisferios (**A**) y túber cortical en lóbulo frontal izquierdo (**B**).

taba hallazgos patológicos de CET (figura 1). No hubo pacientes con TAC alterada y RNM normal.

Manifestaciones extraneurológicas

En todos los pacientes se realizó ecocardiograma, ecografía renal, evaluación por dermatología y oftalmología como parte del seguimiento de CET. La tabla 2 muestra un resumen de las manifestaciones extra-neurológicas observadas en los pacientes.

Compromiso cardíaco

Los rabdomiomas cardíacos se observaron en 20 pacientes (47,6%), 2 de los cuales fueron diagnosticados en periodo antenatal y 5 en periodo neonatal.

De los 42 pacientes, 2 (4,7%) presentaron insuficiencia cardiaca neonatal debido a la presencia de rabdomiomas, un paciente (2,4%) presentó bradicardia al nacer y 3 (7,1%) presentaron síndrome de Wolff-Parkinson-White. Un paciente presentó obstrucción del tracto de salida de ventrículo izquierdo (TSVI) secundaria a los rabdomiomas, realizándose cirugía cardíaca al mes de vida (tabla 2).

Compromiso renal

De los 42 pacientes estudiados, 12 (28,6%) presentaron lesiones características de CET en la ecografía re-

Tabla 2. Manifestaciones extraneurológicas en los pacientes con CET

Compromiso cardíaco	Pacientes N (%)	Compromiso dermatológico	Pacientes N (%)
Rabdomiomas cardíacos	20/42 (47,6)	Máculas hipomelanóticas	42/42 (100)
Diagnóstico antenatal	2 (10)	Angiofibroma facial	20/42 (47,6)
Diagnóstico neonatal	5 (25)	Parche de Shagreen	10/42 (23,8)
Insuficiencia cardíaca neonatal	2/42 (4,7)	Placa fibrosa cefálica	4/42 (9,5)
Obstrucción TSVI	1/42 (2,4)	Fibromas ungueales	5/42 (12)
Bradicardia	1/42 (2,4)		
Síndrome Wolff-Parkinson-White	3/42 (7,1)		
Compromiso renal	Pacientes N (%)	Compromiso ocular	Pacientes N (%)
Hallazgos de CET en ecografía renal	12/42 (28,6)	Hamartomas retinianos	15/42 (35,7)
Angiomiolipomas	7/42 (16,7)	Diagnóstico neonatal	1/15 (6,7)
Quistes renales	6/42 (14,3)	Diagnóstico < 1 año	8/15 (53,3)
Sospecha de enfermedad renal poliquística	2/6 (33,3)	Parche acrómico	0 (0)

CET: complejo esclerosis tuberosa; TSVI: tracto de salida de ventrículo izquierdo.

nal, 7 de ellos (16,7%) presentaron AML y 6 (14,3%) presentaron quistes renales. Dos de los 6 pacientes con quistes renales (33,3%) presentaron un patrón sugestivo de enfermedad renal poliquística asociada a CET (tabla 2).

Compromiso dermatológico

Todos los pacientes presentaron máculas hipomelanóticas y 5 de ellos presentaban lesiones en confeti (11,9%). Los angiofibromas faciales fueron observados en 20 de los 42 pacientes (47,6%), los parches de Shagreen en 10 pacientes (23,8%), la placa fibrosa cefálica en 4 pacientes (9,5%) y los fibromas ungueales en 6 (14,3%) (tabla 2).

Compromiso ocular

En 15 de los 42 pacientes (35,7%) se observaron hamartomas retinianos. En uno de los 15 pacientes (6,7%) con hamartomas retinianos el diagnóstico fue neonatal, mientras que en 8 (53,3%) estas lesiones fueron detectadas durante el primer año de vida (tabla 2).

Estudio genético

En la búsqueda de mutaciones en los exones 15 de *TSC1* y 33, 36 y 37 de *TSC2* realizada en 21 pacientes, se detectaron mutaciones en 4 de ellos. Estas mutaciones han sido reportadas previamente en la literatura. Los resultados del estudio genético junto con las características clínicas de esos pacientes se resumen en la tabla 3. En 2 pacientes emparentados (madre e hijo) se detectó una misma mutación, correspondiente a una mutación sin sentido (*c.1525C>T;p.R509**). En un

paciente se detectó la mutación *c.1997+1G>C* en un sitio dador de splicing del intrón. Finalmente en un paciente con un fenotipo severo, se detectó la mutación *c.4928A>G (p.N1643S)* que corresponde a un cambio de asparragina por serina en el codón 1643. El fenotipo más severo se observó en el paciente con mutación en el gen *TSC2*.

Discusión

Este trabajo se realizó con el objetivo de conocer las características clínicas de pacientes pediátricos chilenos con diagnóstico de CET controlados en un Servicio de Neuropsiquiatría Infantil, explorar las causas genéticas de esta enfermedad y la relación de las mutaciones con las características clínicas. Considerando que el CET es una enfermedad genética autosómica dominante, con expresividad variable y penetrancia incompleta, los fenotipos esperables debieran ser diversos. Por otro lado, dado que la población analizada fue reclutada en un Servicio de Neurología Infantil, los fenotipos observados tienen el sesgo de una mayor severidad.

En nuestra serie de 42 pacientes, solo en el 15% existían antecedentes familiares de CET. Este porcentaje es menor a lo descrito en la literatura, que reporta que alrededor de un tercio de los casos serían familiares^{8,24}. Esto podría explicarse por el subdiagnóstico en los padres debido a manifestaciones asintomáticas, como por ejemplo rabdomiomas cardíacos que revirtieron durante la infancia, hamartomas retinianos o NSE.

Tabla 3. Características clínicas y genéticas de pacientes con CET

Gen	Variación de secuencia	HF	Edad al diagnóstico (m)	Presentación clínica inicial	Evolución de epilepsia	TC	NSE	ASECG	RDSM	TEA	MH	AF	PS	RC	HR
TSC2	c.4928A>G (p.N1643S)	No	5	Espasmos infantiles	EF	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	
TSC1	c.1525C>T (p.R509*)	No	36	Crisis de ausencia	EF	Sí	No	No	No	No	Sí	No	Sí	No	No
TSC1	c.1525C>T (p.R509*)	Sí	6	Espasmos infantiles	EF	Sí	No	No	Sí	No	Sí	No	No	No	No
TSC1	c.1997+1G>C	No	36	Crisis focales	EF	Sí	Sí	No	No	No	Sí	Sí	No	Sí	No

AF: angiofibromas faciales; ASEC: astrocitoma subependimario de células gigantes; CET: complejo esclerosis tuberosa; EF: epilepsia focal; HF: historia familiar de CET; HR: hamartomas retinianos; m: meses; MH: máculas hipomelanóticas; NSE: nódulos subependimarios; PS: parche de Shagreen; RC: rabdomiomas cardiacos; RDSM: retraso de desarrollo psicomotor; TC: túberes corticales; TEA: trastorno de espectro autista.

En el 62% de los pacientes los signos y síntomas iniciales fueron detectados antes de los 6 meses de vida y en el 17% la detección fue antes de la semana de vida, lo cual es más precoz que lo reportado en la literatura⁶.

Las manifestaciones iniciales de CET fueron la aparición de crisis convulsivas en el 73% de los casos, el hallazgo de rabdomiomas cardiacos en el 17%, RDSM en el 5% y lesiones cutáneas en el 5%. Durante su evolución, todos los pacientes presentaron alguna manifestación de compromiso neurológico. El 73,8% de los pacientes presentaron RDSM, siendo severo en el 59,5% de ellos. El 28,6% de los pacientes presentaron conductas autistas y el 92,9% evolucionaron con epilepsia. La presencia de conductas autistas estuvo asociada a la coexistencia de epilepsia de inicio precoz y difícil manejo, lo cual es concordante con lo descrito en la literatura³.

La edad promedio del inicio de crisis epilépticas fue de 11,6 meses, con un rango de 1 a 84 meses. Otra serie de casos muestra edades promedio de inicio de crisis de 29 meses¹⁰. En ambos puede observarse que en la mayoría de los pacientes el inicio de crisis fue antes del año de vida. El 48,7% de los pacientes con epilepsia evolucionaron con espasmos infantiles, lo cual es algo superior a lo reportado en la literatura, que describe una frecuencia de espasmos infantiles entre 20 y 37%^{10,30,31}. El 5,1% de los pacientes con epilepsia evolucionaron a síndrome de Lennox-Gastaut, lo cual es muy similar a lo descrito en la literatura¹⁰. Además del inicio precoz, la epilepsia fue de difícil manejo, requiriendo múltiples cambios de antiepilepticos y esquemas de 2 o 3 fármacos asociados. Todos los pacientes que presentaron epilepsia evolucionaron a un síndrome epiléptico focal.

El 66,7% de los pacientes contaban con RNM cerebral y todos ellos presentaron hallazgos característicos de CET. De ellos, el 19% tenían una TAC previa sin signos de CET; esto refuerza la importancia de la

RNM para un buen diagnóstico. Es importante destacar que las recomendaciones internacionales actuales sugieren la realización de RNM cerebral cada 1-3 años en pacientes con CET asintomáticos, y si presentan un SEGA de gran tamaño se sugiere control con RNM más frecuente³². En la literatura se reporta que el 80% de los pacientes con CET presentan NSE, el 90% presentan túberes corticales y el 5-15% presentan un SEGA durante la evolución³³.

Los rabdomiomas cardiacos son la característica principal de esta enfermedad en los períodos fetal y neonatal³⁴, y rara vez son observados en pacientes que no tienen CET³⁵. En nuestra serie, el 49% de los pacientes presentaron rabdomiomas cardiacos en la ecocardiografía. En el 10% de ellos los rabdomiomas fueron pesquisados en el periodo antenatal y en el 25% en el periodo neonatal. En un paciente se constató obstrucción del TSVI, que requirió cirugía cardiaca al mes de vida, con buena evolución posterior. Es común que lesiones de gran tamaño pueden causar obstrucción al TSVI o enfermedad cardioembólica³⁴. Un paciente presentó bradicardia al nacer y 3 pacientes presentaron síndrome de Wolff-Parkinson-White; en 2 de ellos el diagnóstico fue neonatal y en uno esta taquiarritmia fue detectada en la infancia. Es importante destacar no solo la necesidad de seguimiento cardiológico con ecocardiografía hasta la regresión de los rabdomiomas, sino también con electrocardiograma a todas las edades para detectar defectos de conducción precozmente, como ocurrió en uno de nuestros pacientes³².

El 29% de los pacientes presentaron lesiones características de CET en la ecografía renal. El 17% presentaron AML y el 15% quistes renales. De estos últimos, 2 pacientes presentaron un patrón sugerente de enfermedad renal poliquística asociada a CET. En ninguno de los pacientes se reportó compromiso de la función renal secundario a la presencia de AML. La literatura describe que las complicaciones renales son la causa

más frecuente de muerte relacionada con CET, con la identificación de AML múltiples y bilaterales en el 70-90% de pacientes adultos. La frecuencia es mucho menor en niños, reportándose hasta un 16% en pacientes menores de 2 años³⁴. El bajo porcentaje de pacientes con compromiso renal reportados en nuestra serie se explicaría por corresponder a pacientes pediátricos, que aún no han desarrollado manifestaciones renales de la enfermedad.

En nuestra serie el compromiso dermatológico estuvo presente en el 100% de los pacientes. Todos presentaron máculas hipomelanóticas, 46% angiofibromas faciales, 22% parche de Shagreen, 10% placa fibrosa cefálica, 10% lesiones en confeti y 12% fibromas ungueales. Nuestros hallazgos son similares a lo descrito en la literatura, tomando en consideración que las máculas hipomelanóticas pueden ser la única manifestación cutánea de CET en pacientes pequeños³.

En nuestra serie el 37% de los pacientes presentaron hamartomas retinianos. En el 7% de ellos el diagnóstico fue neonatal, mientras que en el 53% estas lesiones fueron detectadas durante el primer año de vida. Nuestros hallazgos coinciden con los descritos en la literatura, destacando la importancia de la evaluación oftalmológica en el primer año de vida para apoyar el diagnóstico precoz³.

En el estudio genético realizado en 21 pacientes se lograron identificar 3 mutaciones previamente descritas. En 2 casos emparentados se detectó la misma mutación. Pero este estudio solo incluyó un número limitado de exones analizados. En 4 pacientes se detectaron variaciones de secuencia descritas como mutaciones patogénicas, 3 en el gen *TSC1* y una en el gen *TSC2*. Estas mutaciones, reportadas en <http://www.lovd.nl>, corresponden a una mutación sin sentido c.1525C>T (p.R509*) en el gen *TSC1*, encontrada en los 2 pacientes emparentados (madre e hijo), una mutación en un sitio dador de splicing c.1997+1G>C también en el gen *TSC1*, encontrada en un paciente, y una mutación en el gen *TSC2* c.4928A>G (p.N1643S) en el exón 37 (tabla 3). La mutación c.1525C>T (p.R509*) corresponde al código CM971518 de la *Human Gene Mutation Database* (HGMD) y ha sido reportada 28 veces, tanto en casos familiares como esporádicos (<http://www.lovd.nl/TSC1>). La mutación del sitio dador de splicing c.1997+1G>C no se encuentra reportado en HGMD, y solo ha sido descrito en un paciente, publicado directamente en <http://www.lovd.nl/TSC1>.

Con relación a la mutación c.4928A>G (p.N1643S) en el exón 37 del gen *TSC2*, en HGMD se han reportado 3 mutaciones patogénicas en el mismo codón, ninguna de las cuales corresponde a la variación detectada en nuestro estudio.

En la literatura se describe una tasa de detección

de mutaciones que varía entre el 75-90%, cuando se realiza el análisis simultáneo de todos los exones codificantes de los genes *TSC1* y *TSC2*, además de las regiones aledañas^{3,35}. La tasa de detección de mutaciones en nuestro estudio fue de 19%, la cual no es baja si consideramos que se analizaron solo 4 exones. Esto se explica por una concentración un poco mayor de mutaciones en estos exones, que fue la razón por la cual fueron seleccionados para este análisis²⁴.

Diversos estudios han analizado la relación entre genotipo y fenotipo en CET, demostrando que las mutaciones en el gen *TSC2* se manifiestan con mayor severidad que las mutaciones en *TSC1*. Específicamente se han asociado a una alta frecuencia de discapacidad intelectual, epilepsia severa de inicio precoz, túberes corticales y compromiso renal extenso^{3,11,12,36}. En nuestro estudio se identificó solo una mutación patogénica en *TSC2* (c.4928A>G (p.N1643S)) en un paciente con una evolución clínica particularmente severa, presentando espasmos infantiles desde los 5 meses de edad y de muy difícil manejo. También ha presentado diversos tipos de crisis incluyendo crisis tónicas, ausencias y crisis tónico-clónicas, requiriendo múltiples esquemas de fármacos antiepilepticos. Presenta un RDSM global de predominio en el lenguaje y es uno de los 2 pacientes de nuestra serie que presentan un SEGA, asociado a múltiples NSE. Presenta además hamartomas retinianos y compromiso dermatológico extenso.

Aunque se han establecido algunas relaciones entre genotipo y fenotipo, el espectro clínico en CET es muy variable. En nuestro estudio solo pudimos comparar los fenotipos de 2 pacientes con idéntica mutación. Ellos eran madre e hijo, y ambos presentaron la mutación sin sentido c.1525C>T (p.R509*) en *TSC1*, pero manifestaron fenotipos muy distintos. La madre presentó coeficiente intelectual normal, era autovaliente y con historial de epilepsia no refractaria. Su hijo, en cambio, inició espasmos infantiles a los 6 meses de edad. Se indicó tratamiento con vigabatrina sin respuesta. Luego evolucionó con diferentes tipos de crisis, requiriendo politerapia de fármacos antiepilepticos con escasa respuesta. Presentó RDSM de predominio en el lenguaje y múltiples túberes corticales.

Este es el primer estudio realizado en Chile que ha analizado clínica y genéticamente a los pacientes con CET. Esperamos que a futuro se realicen nuevos estudios como este en un mayor número de pacientes con CET y que incluyan un mayor número de exones.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales: Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron

a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado: Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Financiación

Trabajo financiado en parte por el Proyecto Semilla de la Sociedad Chilena de Pediatría.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Proyecto Semilla de la Sociedad Chilena de Pediatría-2013. Agradecemos la valiosa colaboración de los pacientes y sus familias.

Referencias

- Borkowska J, Schwartz RA, Kotulska K, Jozwiak S. Tuberous sclerosis complex: tumors and tumorigenesis. *Int J Dermatol.* 2011;50(1):13-20.
- Crino PB, Nathanson KL, Henske EP. The tuberous sclerosis complex. *N Engl J Med.* 2006;355(13):1345-56.
- Curatolo P, Bombardieri R, Jozwiak S. Tuberous sclerosis. *Lancet.* 2008;372(9639):657-68.
- Orlova KA, Crino PB. The tuberous sclerosis complex. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1184:87-105.
- Webb DW, Fryer AE, Osborne JP. Morbidity associated with tuberous sclerosis: a population study. *Dev Med Child Neurol.* 1996;38(2):146-55.
- Staley BA, Vail EA, Thiele EA. Tuberous sclerosis complex: diagnostic challenges, presenting symptoms, and commonly missed signs. *Pediatrics.* 2011;127(1):e117-25.
- Grajkowska W, Kotulska K, Jurkiewicz E, Matyja E. Brain lesions in tuberous sclerosis complex. *Review.* *Folia Neuropathol.* 2010;48(3):139-49.
- Torres OA, Roach ES, Delgado MR, et al. Early diagnosis of subependymal giant cell astrocytoma in patients with tuberous sclerosis. *J Child Neurol.* 1998;13(4):173-7.
- Holmes GL, Stafstrom CE; Tuberous Sclerosis Study Group. Tuberous sclerosis complex and epilepsy: recent developments and future challenges. *Epilepsia.* 2007;48(4):617-30.
- Swann G, Byck GR, Dick DM, et al. Effect of OPRM1 and stressful life events on symptoms of major depression in African American adolescents. *J Affect Disord.* 2014;162:12-9.
- Au KS, Williams AT, Roach ES, et al. Genotype/phenotype correlation in 325 individuals referred for a diagnosis of tuberous sclerosis complex in the United States. *Genet Med.* 2007;9(2):88-100.
- Dabora SL, Jozwiak S, Franz DN, et al. Mutational analysis in a cohort of 224 tuberous sclerosis patients indicates increased severity of TSC2, compared with TSC1, disease in multiple organs. *Am J Hum Genet.* 2001;68(1):64-80.
- Józwiak S, Schwartz RA, Janniger CK, Michałowicz R, Chmielik J. Skin lesions in children with tuberous sclerosis complex: their prevalence, natural course, and diagnostic significance. *Int J Dermatol.* 1998;37(12):911-7.
- Józwiak S, Schwartz RA, Janniger CK, Bielicka-Cymerman J. Usefulness of diagnostic criteria of tuberous sclerosis complex in pediatric patients. *J Child Neurol.* 2000;15(10):652-9.
- Tworetzky W, McElhinney DB, Margossian R, et al. Association between cardiac tumors and tuberous sclerosis in the fetus and neonate. *Am J Cardiol.* 2003;92(4):487-9.
- Bader RS, Chitayat D, Kelly E, et al. Fetal rhabdomyoma: prenatal diagnosis, clinical outcome, and incidence of associated tuberous sclerosis complex. *J Pediatr.* 2003;143(5):620-4.
- Cudzilo CJ, Szczesniak RD, Brody AS, et al. Lymphangioleiomomatosis screening in women with tuberous sclerosis. *Chest.* 2013;144(2):578-85.
- Shepherd CW, Gomez MR, Lie JT, Crowson CS. Causes of death in patients with tuberous sclerosis. *Mayo Clin Proc.* 1991;66(8):792-6.
- Ewalt DH, Sheffield E, Sparagana SP, Delgado MR, Roach ES. Renal lesion growth in children with tuberous sclerosis complex. *J Urol.* 1998;160(1):141-5.
- Bissler JJ, Kingswood JC. Renal angiomyolipoma. *Kidney Int.* 2004;66(3):924-34.
- Kwiatkowski DJ, Whittemore VH, Thiele EA. Tuberous sclerosis complex: Genes, clinical features and therapeutics. Weinheim. Wiley-VCH. 2010.
- Baskin HJ Jr. The pathogenesis and imaging of the tuberous sclerosis complex. *Pediatr Radiol.* 2008;38(9):936-52.
- Curatolo P, Maria BL. Tuberous sclerosis. Edited by PJ Vinken and GW Bruyn. Elsevier. Amsterdam. Handbook of Clinical Neurology 2013;111:323-31.
- Napolioni V, Curatolo P. Genetics and molecular biology of tuberous sclerosis complex. *Curr Genomics.* 2008;9(7):475-87.
- Niida Y, Stemmer-Rachamimov AO, Logrip M, et al. Survey of somatic mutations in tuberous sclerosis complex (TSC) hamartomas suggests different genetic mechanisms for pathogenesis of TSC lesions. *Am J Hum Genet.* 2001;69(3):493-503.
- Crino PB. The pathophysiology of tuberous sclerosis complex. *Epilepsia* 2010;51(Suppl 1):27-9.
- Meng XF, Yu JT, Song JH, Chi S, Tan L. Role of the mTOR signaling pathway in epilepsy. *J Neurol Sci.* 2013;332(1-2):4-15.
- Rosser T, Panigrahy A, McClinton W. The diverse clinical manifestations of tuberous sclerosis complex: a review. *Semin Pediatr Neurol.* 2006;13(1):27-36.
- Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991;19(19):5444.
- Madadi P, Sistonen J, Silverman G, et al. Life-threatening adverse events following therapeutic opioid administration in adults: is pharmacogenetic analysis useful? *Pain Res Manag.* 2013;18(3):133-6.
- Tartter MA, Ray LA. A prospective study of stress and alcohol craving in heavy drinkers. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012;101(4):625-31.
- Krueger DA, Northrup H; International

- Tuberous Sclerosis Complex Consensus Group. Tuberous sclerosis complex surveillance and management: recommendations of the 2012 International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Conference. *Pediatr Neurol.* 2013;49(4):255-65.
33. Northrup H, Krueger DA; International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Group. Tuberous sclerosis complex diagnostic criteria update: recommendations of the 2012 International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Conference. *Pediatr Neurol.* 2013;49(4):243-54.
34. Curatolo P, D'Argenzo L, Cerminara C, Bombardieri R. Management of epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Expert Rev Neurother.* 2008;8(3):457-67.
35. Jang MA, Hong SB, Lee JH, et al. Identification of TSC1 and TSC2 mutations in Korean patients with tuberous sclerosis complex. *Pediatr Neurol.* 2012;46(4):222-4.
36. Sancak O, Nellist M, Goedbloed M, et al. Mutational analysis of the TSC1 and TSC2 genes in a diagnostic setting: genotype-phenotype correlations and comparison of diagnostic DNA techniques in Tuberous Sclerosis Complex. *Eur J Hum Genet.* 2005;13(6):731-41.