



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE PEDIATRÍA “DR. SILVESTRE FRENK FREUND”
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE SUBESPECIALISTA EN
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA

**“EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 Y CB2 EN
TEJIDO CEREBRAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS
CON EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE”**

PRESENTA

Dra. Flor Verónica García Licerio

Cargo: Médico Residente de 2° año de la especialidad de Neurología Pediátrica.

Matrícula: 97203100

Adscripción: Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc 330,
Doctores, Cuauhtémoc, 06720, Ciudad de México.

Tel: 6562739617

e-mail: f_gl@hotmail.com

DIRECTOR DE TESIS

Nombre: Dra. Araceli Reyes Cuayahuitl

Cargo: Profesor titular de la especialidad de Neurología Pediátrica.

Matrícula: 991411923

Adscripción: Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc 330,
Doctores, Cuauhtémoc, 06720, Ciudad de México.

Tel: 56276900, ext. 22261

e-mail: draaracelirc@gmail.com

COTUTOR

Nombre: Dra. Sandra Orozco Suárez

Cargo: Titular adscrita a la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades
Neurológicas en la Unidad de Alta Especialidad, “Dr. Bernardo Sepúlveda”, 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.

ÍNDICE

Resumen.....	5
Marco teórico.....	6
Planteamiento del problema.....	18
Pregunta de investigación.....	20
Justificación del estudio.....	21
Objetivos.....	23
Material y métodos.....	24
Definición y operacionalización de variables.....	26
Criterios de selección de la muestra.....	28
Análisis estadístico.....	29
Aspectos éticos.....	30
Descripción general del estudio.....	32
Desglose de recursos a utilizar.....	33
Resultados.....	34
Discusión.....	42
Conclusiones.....	47
Referencias bibliográficas.....	48
Anexos.....	53

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE PEDIATRÍA DR. SILVESTRE FRENK FREUND
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD

AUTORIZACIÓN COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
R-2017-785-089

En virtud de haber terminado de manera satisfactoria su tesis y contar con el aval de su director de tesis para obtener el grado de especialista en:

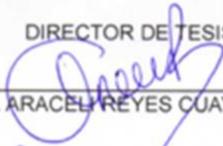
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA

SE AUTORIZA LA IMPRESIÓN DE TESIS AL ALUMNO

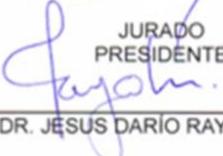
FLOR VERÓNICA GARCÍA LICERIO

**"EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 Y CB2 EN
TEJIDO CEREBRAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS
CON EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE"**

DIRECTOR DE TESIS


DRA. ARACELI REYES CUAYAHUITL

JURADO
PRESIDENTE


DR. JESUS DARIÓ RAYO MARES

SECRETARIO


DRA. ABIGAIL HERNÁNDEZ CABEZA

VOCAL


DR. LUIS ANTONIO ARENAS AGUAYO

CIUDAD DE MEXICO, ENERO DE 2021

Dedicatoria y Agradecimientos

A Dios, por los grandes milagros y porque para Él no hay imposibles.

A mis padres, por haberme forjado como la persona que soy ahora, todos mis logros se los debo a ustedes, una vida no me alcanzará para agradecerles.

A mis hermanos, gracias por su amor y apoyo incondicional, me enorgullecen todos sus logros, sé que serán los mejores.

A toda mi familia, por ser mi motivación y creer en mí.

A mi compañero de vida, gracias por cruzarte en mi camino e iluminar todos mis días.

A mis maestros, por permitirme expandir mis conocimientos y motivarme a ser un mejor médico, gracias por sus enseñanzas, dedicación y paciencia.

A mis compañeros de residencia y, sobre todo, amigos, gracias por su compañía y comprensión durante este tiempo juntos.

A todos los médicos y trabajadores de la salud, en especial a quienes han dado su vida a cambio de salvar otras.

A los niños, porque por ellos trabajamos, porque siempre tienen algo nuevo que enseñarnos.

“EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 Y CB2 EN TEJIDO CEREBRAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE”

Dra. Araceli Reyes Cuayahuitl Dra. Flor Verónica García Licerio Dra. Sandra Orozco Suárez

Introducción: De acuerdo con la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE), la epilepsia se puede definir como un trastorno cerebral caracterizado por una predisposición continuada a la generación de crisis epilépticas, mientras que, se le denomina crisis a la aparición transitoria de signos y/o síntomas provocados por una actividad neuronal anómala excesiva o simultánea en el cerebro.¹ La farmacorresistencia se ha relacionado con diversos factores, entre ellos: un alto número de crisis en fases tempranas del desarrollo, anomalías estructurales del sistema nervioso central, condiciones genéticas, infecciosas, inmunes y metabólicas.³ El probable origen fisiopatológico de la epilepsia farmacorresistente aparentemente se trata de situaciones multifactoriales, desde ambientales hasta genéticos.⁴

Objetivo: Determinar la expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente.

Material y Métodos: Se realizó un estudio de investigación de tipo observacional, descriptivo, retrospectivo y transversal en el Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, en un periodo comprendido del 01-Enero-2006 al 31-Diciembre-2018. Mediante una revisión sistemática de expedientes clínicos de pacientes con el diagnóstico de epilepsia farmacorresistente, se identificaron los factores que intervinieron en dicho diagnóstico, integrándose variables como: edad, sexo, tipo de epilepsia, número de crisis, tiempo de evolución de la epilepsia, número de fármacos para su tratamiento, hallazgos histopatológicos. Para el análisis estadístico se realizaron frecuencias, proporciones y porcentajes.

Resultados: Se describieron los siguientes resultados histopatológicos: displasia cortical focal en 18 pacientes (48.6%), gliofibroma en 1 paciente (2.7%), infiltrado linfocitario perivascular en 5 pacientes (13.5%), microglía activada en 1 paciente (2.7%), pérdida neuronal en 6 pacientes (16.2%), sin encontrarse lesiones en 1 paciente (2.7%), tumor neuroepitelial disembrionárico en 5 pacientes (13.5%). En relación con los valores de CB se describieron las siguientes medias: CB1 vasos de 216223.55, CB1 células de 260355.36, CB2 vasos de 216257.43, CB2 células de 277293.25.

Conclusiones: Los hallazgos más frecuentes en el estudio, fueron, en cuanto al tipo de epilepsia, la de tipo focal motora; en relación a histopatología, la displasia cortical focal. No hubo relación de significancia estadística entre la expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente.

MARCO TEÓRICO

De acuerdo con la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE), la epilepsia, se puede definir como un trastorno cerebral, caracterizado por una predisposición continuada a la generación de crisis epilépticas, mientras que, se le denomina crisis a la aparición transitoria de signos y/o síntomas provocados por una actividad neuronal anómala excesiva o simultánea en el cerebro, por otra parte existen definiciones prácticas que consideran a la epilepsia como una enfermedad cerebral caracterizada por cualquiera de las situaciones siguientes:¹

- Aparición de al menos dos crisis no provocadas (o reflejas) con una separación >24 horas.
- Aparición de una crisis no provocada (o refleja) y probabilidad de que aparezcan más crisis durante los 10 años siguientes similar al riesgo de recurrencia general (al menos el 60%) después de dos crisis no provocadas.
- Diagnóstico de un síndrome epiléptico.

La ILAE recomienda que ante una primera crisis epiléptica se intente determinar la etiología, las cuales se dividen en seis grupos: estructural, genética, infecciosa, metabólica, inmunitaria y desconocida, además, se proponen tres niveles para el abordaje correcto de la epilepsia, el cual consiste en lo siguiente.²

- Clasificar el tipo de crisis: inicio focal (consciente o consciencia alterada; inicio motor o no motor), inicio generalizado (motor o no motor) o inicio desconocido (motor o no motor).
- Clasificar el tipo de epilepsia: focales, generalizadas, combinadas focales y generalizadas y, desconocidas.

- Integración de síndrome de epilepsia: se considera un conjunto de características que incorporan tipos de crisis, electroencefalograma y características de diagnóstico por imágenes que suelen presentarse juntas.²

La epilepsia representa una condición clínica frecuente, en la actualidad se cuenta con amplias opciones de tratamiento, sin embargo, un tercio de estos pacientes que presentan epilepsia refractaria a tratamiento o farmacorresistente, que el consenso de la ILAE define como: “el fracaso en alcanzar una libertad sostenida de crisis, tras el ensayo terapéutico adecuado de 2 antiepilépticos elegidos y usados apropiadamente, y bien tolerados por el paciente”.³

La farmacorresistencia se ha relacionado con diversos factores, entre ellos: un alto número de crisis en fases tempranas del desarrollo, anomalías estructurales del sistema nervioso central, condiciones genéticas, infecciosas, inmunes y metabólicas; una fracción de estos pacientes tampoco son susceptibles de tratamiento quirúrgico, situación que complica aún más el control.³

Diversas investigaciones sugieren el probable origen fisiopatológico de la epilepsia farmacorresistente, que aparentemente se trata de situaciones multifactoriales, desde ambientales hasta genéticos, sin embargo, las hipótesis con mayor aceptación, son las siguientes:⁴

- Farmacocinética: propone que una sobreexpresión de proteínas transportadoras y enzimas metabolizadoras de fármacos antiepilépticos, disminuyen la biodisponibilidad de los mismos lo que dificulta la llegada a sus dianas terapéuticas.

- Redes neuronales: sugiere que la degeneración y remodelación neuronal producida por crisis recurrentes genera cambios y alteración en las vías reguladoras de las crisis.
- Severidad intrínseca: postula que factores neurobiológicos intrínsecos intervienen de forma directa en la severidad y farmacorresistencia de la epilepsia.
- Variantes genéticas: sugiere que varianzas en los genes codificantes de enzimas metabolizadoras, canales iónicos y receptores diana alteran la farmacocinética y farmacodinamia del tratamiento.
- Del blanco: refiere que anomalías en los blancos farmacológicos aunado a alteraciones en los canales y receptores de membrana, causarían disminución de la sensibilidad a los fármacos.
- Transportadores: sugiere la presencia de sobreexpresión de transportadores de salida de los fármacos en la barrera hematoencefálica, causando farmacorresistencia por baja biodisponibilidad y menor interacción con sus dianas.

Uno de los sistemas que se ha relacionado ampliamente con el desarrollo neuronal, la epilepsia e interesantes dianas terapéuticas, así como mecanismos fisiopatológicos, es el sistema endocannabinoide.⁵

Se conoce como sistema endocannabinoide o sistema cannabinoide endógeno (en adelante SCE) a un importante y complejo sistema neuromodulador, del cual sus principales investigaciones se remontan a la década de 1990, dicho sistema está compuesto por receptores cannabinoideos, sus respectivos ligandos endógenos (endocannabinoideos) y las enzimas responsables de su síntesis y degradación.⁵

En referencia a los receptores, estos se encuentran acoplados a proteínas G, principalmente Gi y G0, por lo que su activación inhibe el adenilato ciclasa causando un descenso de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) intracelular; en el mismo sentido inhiben algunos canales de calcio dependientes de voltaje.⁵

También se sabe que estos receptores activan la ruta de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), vía que induce diferenciación y proliferación celular; con lo anterior, se infiere la importancia de los receptores CB1 y CB2 en la fisiología celular, incluidas, funciones sinápticas, transcripción génica y movilidad celular.⁵

Los receptores CB1 y CB2 se conforman por dominios transmembrana, un dominio extracelular y un dominio terminal intracelular, sin embargo, ambos poseen secuencia de aminoácidos distintas.⁵

En el año de 1964 se logró aislar por primera vez al tetrahidrocannabinol como responsable de los efectos psicoactivos del cannabis, sin embargo, fue hasta el año 1990, que se logró aislar y replicar el primer receptor cannabinoide, al cual se le denominó "CB1", posteriormente se identificó un segundo receptor de este sistema, en consecuencia, se asignó como "CB2".⁶

Alteraciones en el SCE se han relacionado con diversas afecciones neurológicas, tales como: Alzheimer, Parkinson, Huntington, esclerosis múltiple, epilepsia.⁷

El SCE tiene una amplia distribución en el cuerpo humano, debido a su extensión y como corresponde a su complejidad, presenta una vasta distribución tisular, celular y subcelular, siendo posible encontrarlo en el sistema nervioso central, sistema nervioso periférico, microglia y elementos vasculares, de acuerdo a su localización, el SCE participa y modula diversas funciones fisiológicas, tales como: coordinación, control de movimientos, funciones cognitivas, memoria, estrés, dolor, apetito, estado

de ánimo, desarrollo neuronal, inflamación, liberación hormonal, entre otras funciones.⁸

Se reconoce que el SCE posee un importante rol en el desarrollo del sistema nervioso central, plasticidad neuronal y la respuesta a lesiones endógenas y ambientales.⁸

El receptor CB1 ha sido ampliamente investigado en relación a diversos procesos del sistema nervioso central (en adelante SNC), por su amplia presencia en dicho sistema, se expresa principalmente en terminales axónicas y segmentos axónicos preterminales, siempre fuera de la zona activa de sinapsis, asimismo, se considera el receptor metabotrópico más abundante del cerebro.⁹

El receptor CB1 se localiza en SNC (particularmente en los núcleos basales, córtex, hipocampus y cerebelo) especialmente se presenta en neuronas corticales e hipocampales positivas a colecistoquinina y en menor nivel en neuronas glutamatérgicas, es abundante en la neuronas espinosas del estriado dorsal y ventral, la expresión es particularmente alta en las vías directas que entran al globo pálido y hacia la sustancia nigra.⁹

Este receptor también se encuentra en pulmones, sistema vascular, músculos, tracto gastrointestinal, órganos reproductivos, sistema inmunológico, hígado, médula ósea, páncreas. Se cree que este receptor es responsable de efectos psicológicos sobre el placer, la memoria, el pensamiento, la concentración, percepciones sensoriales y temporales, y el movimiento coordinado.⁹

El receptor CB2, a diferencia de CB1, se encuentra en sistema nervioso central en una concentración cuantitativamente inferior, por lo que en sus inicios se llegó a inferir que su influencia en este sistema era mínima o nula, sin embargo, actualmente se sabe de su gran importancia.¹⁰

La ubicación de los receptores CB2 principalmente es en microglía y elementos vasculares, tales como, las células del sistema inmunológico, a este receptor se le atribuye en mayor medida los efectos inmunomodulares que desarrolla el SCE, inclusive, se ha determinado una notable característica de CB2, la cual es, aumentar su presencia en situaciones de daños tisulares o en procesos inflamatorios, aún falta determinar si se debe a una migración celular positiva a CB2 o a una sobreexpresión génica de dicho receptor. También se ha demostrado la expresión de CB2 en algunas neuronas, de forma particular en condiciones patológicas.¹¹

Los ligandos de los receptores cannabinoides son derivados de ácidos grasos poliinsaturados; siendo los más importantes la anandamida y el 2 araquidonil glicerol, ambas contienen ácido araquidónico, sin embargo, in vivo presentan vías de síntesis y degradación distintas, además, dichos procesos son mediados por enzimas diferentes.¹²

La anandamida o araquidonoiletanolamida (en adelante AEA) es un endocannabinoide que se encuentra en bajas concentraciones, ya que, a diferencia de otros neurotransmisores, esta molécula no se almacena en vesículas presinápticas, sino que, es producida y liberada bajo estímulos específicos. La concentración de AEA se ha relacionado con la densidad de receptores cannabinoides en cada zona, aunque no es una regla.¹³

La AEA, posee la capacidad de unirse a los recetores CB1 y CB2, presentando mayor afinidad por los primeros, sin embargo, se ha documentado que es capaz de unirse a otros receptores no cannabinoides. En cuanto a la síntesis se han dilucidado múltiples vías, en general, se acepta que se produce por la hidrólisis del precursor fosfolipídico N-araquidonilfosfatidiletanolamida, acción mediada por una fosfolipasa. En cuanto a

la degradación, la realiza la enzima FAAH (enzyme fatty acid amino hydrolase) que la divide en diferentes componentes; se ha reportado que la inhibición de la FAAH aumenta los niveles de AEA.¹³

Otra vía de degradación es a través de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), es importante especificar que las diferencias estructurales entre el ácido araquidónico y AEA, son suficientes para desarrollar inhibidores de COX-2 capaces de influir sobre la AEA, sin afectar la síntesis de prostaglandinas.¹³

El 2 araquidonil glicerol (en adelante 2-AG) es un endocannabinoide que se une a los receptores CB1 y CB2, y se encuentra en mayor concentración que el AEA, se propone que su síntesis es a partir de la transformación del diacilglicerol en 2-AG a través de una diacilglicerol lipasa.¹³

Se encontró que el 2-AG es un importante intermediario en la síntesis lipídica, también, representa una de las mayores fuentes de ácido araquidónico para la síntesis de prostaglandinas y se considera que posee algunos efectos independientes del SCE, ya que en algunos órganos como cerebro, hígado y pulmón representa la principal fuente de ácido araquidónico; la degradación de este neurotransmisor se lleva a cabo principalmente por tres enzimas hidrolíticas: la monoacilglicerol lipasa (MGL), la alpha/beta hidrolasa dominio 6 y 12 (ABHD6 y 12), y la COX-2, se debe de tomar en cuenta que la 2-AG bajo ciertas condiciones puede ser hidrolizada por la FAAH.¹³

La MGL presenta una amplia distribución en el SNC principalmente en las terminales sinápticas, es la enzima que hidroliza la mayor parte del 2-AG por lo que es de interés la inhibición de la MGL, puesto que los estudios revelan que su inhibición disminuye la degradación de la 2-AG con la consecuente disminución de la inflamación mediada

por prostaglandinas, ya que, como con anterioridad se comentó, la 2-AG es una de las principales fuentes de ácido araquidónico para la síntesis de prostaglandinas. Por otra parte, la enzima ABHD12 ha sido encontrada en el cerebro y aunque su función no ha sido exactamente determinada, sus mutaciones se han relacionado con algunas patologías.¹³

Aunado a la importancia de las vías de degradación de la 2-AG, se ha registrado que uno de sus metabolitos oxidativos, el éster de PGE2-glicerol, posee la capacidad de potenciar la transmisión sináptica, mejora la plasticidad neuronal y produce hiperalgesia, además, el 2-AG se considera como un ligando crucial en la supresión de crisis epilépticas, mediante, la disminución de entradas excitatorias neuronales.¹⁴

Los endocannabinoides AEA y 2-AG activando sus receptores ejercen un papel neuroprotector en el daño cerebral por excitotoxicidad, la síntesis de endocannabinoides se activa por un aumento en la concentración de Ca⁺. Hallazgos de esta índole ejemplifican la relevancia de la función neuroprotectora y neuromoduladora, estos ligandos pueden desempeñar funciones como mensajeros retrógrados inhibiendo presinápticamente canales de Ca⁺ y con ello la liberación de neurotransmisores.¹⁵

Como se ha mencionado anteriormente, el SCE ha sido ampliamente estudiado, entre otras cosas, por la capacidad que tiene de interactuar y modular funciones del SNC; es decir, el SCE es esencial para la correcta regulación de la actividad neuronal, dicha importancia, se pone de manifiesto cuando durante el embarazo se administran fitocannabinoides y estos irrumpen el correcto funcionamiento del SCE generando alteraciones del desarrollo neuronal del producto gestacional, aumentando el riesgo futuro a diversos padecimientos neuropsiquiátricos.¹⁶

Se reconoce la capacidad del sistema para la protección neuronal en casos de lesión, y la habilidad de los receptores CB1 y CB2 para controlar a través de sus vías de señalización, la generación y maduración neuronal durante diversos estados de desarrollo, estas señales, también se encuentran activas durante la neurogénesis embrionaria, pero también se detecta la actividad y regulación neuronal y cerebral durante el periodo perinatal y adolescencia, cuando sucede la gliogénesis, mielinización y refinamiento de los circuitos neuronales. Se infiere de esta forma que este sistema influye en la homeostasis neuronal del adulto, pero también, ejerce una importante influencia en la plasticidad celular y remodelamiento neuronal que pueden afectar el desarrollo del cerebro inmaduro.¹⁷

El receptor CB1 también es expresado en células precursoras neuronales, las señales que genera este receptor regulan la proliferación celular y promueven la transición de las células precursoras a células progenitoras intermedias, esta capacidad del CB1 se conserva en algunas áreas neurogénicas de los adultos; igualmente el CB1 mantiene influencia en la neurogénesis y la oligodendrogénesis, su activación promueven la protección ante daños tisulares neuronales y de consecuencias negativas de las encefalopatías.¹⁷

Uno de los mecanismos propuestos por los que el receptor CB1 contribuye a la protección y plasticidad neuronal es un modelo tripartita en la comunicación sináptica entre neuronas y astrocitos en la que el receptor CB1 presente en los astrocitos y a través de sus vías de señalización y su actividad metabotrópica facilita la comunicación intercelular.¹⁸

Se ha observado que las funciones que desarrollan estos receptores mediante sus vías de señalización pueden verse afectados por alteraciones en moléculas que

intervienen en la señalización, tal es el caso de las mutaciones de la proteína motora kinesina1 que interviene en estos procesos, y se relacionan con anomalías de la corteza cerebral y de la formación de la materia blanca.¹⁹

Por otra parte, el receptor CB2 no se expresa en gran parte de las células neuronales y su función directa en el SNC continúa en estudio, sin embargo, se reconoce una actividad que ejerce en este sistema de manera indirecta, pues cuenta con la capacidad de modular la neuroinflamación reduciendo la actividad de citocinas proinflamatorias, liberadas por las células inmunológicas, protegiendo así, a las células precursoras neuronales y su desarrollo.²⁰

Otro de los datos que demuestra la importancia de los receptores CB1 y CB2 en el desarrollo y protección neuronal es que se ha evidenciado que participan en la neurogénesis secundaria a eventos adversos, induciendo la migración celular a las áreas lesionadas. Lo anterior refleja la importancia del SCE en el desarrollo neuronal y plasticidad.²¹

Análisis en ratones con delección para CB1 demostraron que la falta de señalización de este receptor se asocia a alteraciones en diversas zonas de la corteza cerebral en esta especie.²²

Los receptores cannabinoides se han relacionado con la actividad de las vías de señalización de mTOR; a su vez, se sabe que las alteraciones en las vías de señalización de mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1) se asocian con un grupo de malformaciones del desarrollo cortical, dichas malformaciones representan una causa recurrente de epilepsia refractaria a tratamiento en los infantes.²²

Estudios en modelos murinos con delección de dichos receptores indican que su ausencia afecta estas vías de señalización. La disminución de la actividad de la GTPasa Rho es otro mecanismo propuesto por el cual las alteraciones del receptor CB1 intervienen en las malformaciones del sistema nervioso central favoreciendo la hiperexcitabilidad de las redes neuronales aumentando la susceptibilidad de eventos convulsivos.²³

Para ejemplificar la importancia de este sistema, un estudio *single-knockout* y *doble-knockout* para receptores CB1 y CB2 realizado en modelos murino, concluyó que los ratones doble-knockout desarrollaban diferentes alteraciones en el comportamiento aunado al desarrollo de fenotipos más severos de epilepsia comparado con los ratones single-knockout los cuales no presentaron crisis epilépticas espontáneas, lo que se cree podría ser a causa de una compensación por parte del receptor expresado, sin embargo, los ratones con delección del CB1 presentaron una mortalidad similar a los doble-knockout, las causas de mortalidad fueron diferentes a actividad convulsiva.²⁴

Se discutieron diversas causas de los fenotipos de mayor severidad presentados por el grupo doble-knockout, entre las que resaltaron las siguientes:²⁴

- La ausencia de ambos receptores permitía una actividad neuronal aumentada sin contar con la regulación negativa de las vías inhibitorias de los cannabinoides.
- Al no contarse con los receptores se veían afectados los procesos de proliferación, plasticidad neuronal, entre otros. Lo que ocasionó cambios en el desarrollo neuronal que contribuyeron a la epileptogénesis. Los cerebros de

estos ratones tenían apariencia macroscópica normal y fueron necesarios otros estudios para determinar los cambios.

- Los cambios pudieron ser relacionados a aspectos genéticos heredados, puesto que los ratones doble-knockout provenían de una mezcla.
- La ausencia de los receptores dejaba sin su actividad inmunomoduladora, por lo que los procesos inflamatorios causados por el estrés y otros agentes pudieron ser más severos, contribuyendo a la epileptogénesis.

El receptor CB2 ha sido asociado fuertemente con la neuroprotección, ya que su estimulación con agonistas inversos demostró regular los daños neuronales y los procesos inflamatorios mediados por citosinas, incluso regulándose al alza en estatus epilépticos inducidos. Se ha visto que la estimulación por agonistas del receptor CB2 disminuyó la tasa de mortalidad y prolongó la latencia de estatus epilépticos.²⁵

Aún quedan líneas de estudio sobre el SCE, su relación con la epileptogénesis y potenciales dianas terapéuticas, por último, cabe mencionar otro tipo de factores que también podrían modificar el desarrollo neuronal y del sistema, tal es el caso de uno de los grandes retos a nivel mundial, la desnutrición, que en modelos primates no humanos disminuye la expresión de CB1 en un periodo específico de la gestación de fetos masculinos, situación que podría estar relacionada con efectos adversos en la descendencia.²⁶

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), los trastornos neurológicos afectan a más de mil millones de personas en el mundo y, se estiman alrededor de 6.8 millones de muertes anuales por trastornos neurológicos.

Diversos son los trastornos que se engloban, por mencionar: enfermedad cerebrovascular, enfermedad de Parkinson, epilepsia, migraña, tumores cerebrales, traumatismo que involucren el sistema nervioso, entre muchos otros.

En el mundo, se calcula que más de 50 millones de personas padecían epilepsia y que de ellas 70% responde a tratamiento. En América latina (AL) se estiman 5 millones de personas con epilepsia y alrededor de 5800 muertes por esta causa, sin embargo, cerca de 36% de los países de AL no contaban con estadísticas y, sólo nueve países reportan contar con un plan y programas para atender a las personas con este padecimiento, entre ellos, México.

En nuestro país en el año 2011 un estudio epidemiológico sobre la carga de trastornos neurológicos en México, calculó una prevalencia de 3.9 casos de epilepsia por 1000 habitantes y en 2016 se calcularon aproximadamente 2 millones de personas con epilepsia en nuestro país.

Una de las consecuencias más importantes de la epilepsia son los impedimentos y secuelas neurológicas que se pueden suscitar principalmente en los casos no tratados o farmacorresistentes. Esta última representa cerca de un 30% de los casos, y alrededor del 1% de la población general, aunado al estigma y discriminación asociados a este trastorno.

Actualmente se cuenta con avances importantes en el entendimiento de esta patología y sus mecanismos epileptogénicos, sin embargo, aún existen hitos por resolver que permitan abordar con mayor eficacia los casos graves y prevenir la evolución desfavorable.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Derivado de lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación que pretende responder y aportar información en relación con el problema:

¿Cuál es la expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente?

JUSTIFICACIÓN

La epilepsia es una enfermedad cerebral crónica, no transmisible, que afecta a personas de todo el mundo, sexo y edad. Del total de personas afectadas, un 25% a 30%, no logran un control adecuado con el uso de fármacos antiepilépticos. Se estima que la epilepsia activa presenta una prevalencia de 4 a 10 por 1000 habitantes.

En México existen alrededor de 2 millones de personas con este padecimiento, los esfuerzos de nuestro país para enfrentar esta situación han llevado a que existan 66 centros de atención especializados en este padecimiento a lo largo de las 32 entidades. Lo que pone de manifiesto la importancia de investigar esta área. A pesar de los avances que se han logrado, aún quedan muchos campos de oportunidad en el ámbito médico-científico.

La importancia de continuar con los avances en este campo es diversa, la OMS considera que la epilepsia de origen desconocido es el tipo más frecuente y que representaría 6 de cada 10 casos, el mayor entendimiento de las causas y sistemas involucrados en esta situación permitirán dilucidar con mayor claridad la génesis y tratamiento específico para cada persona y, así, contrarrestar los efectos negativos y secuelas neurológicas que ocasiona este padecimiento, principalmente en los casos crónicos y de difícil control. Lo anterior se refleja en la disminución de goce de la vida plena y un riesgo de mortalidad prematura hasta 3 veces mayor que el de la población general.

El SCE, en su conjunto, es un área de estudio e investigación prometedora para entender diversos aspectos de esta enfermedad y buscar nuevas dianas terapéuticas, por otra parte la presencia de los receptores CB1 y CB2 ha sido ampliamente relacionada con el desarrollo neuronal y la epilepsia, es por ello que vale la pena sumar esfuerzos para conocer más sobre esta enfermedad y, trabajar en pro del bienestar íntegro de los pacientes y sus familias.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Determinar la expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente.

Objetivos específicos

- Describir el tipo de epilepsia y/o síndrome epiléptico de los pacientes con epilepsia farmacorresistente con expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral.
- Conocer los hallazgos histopatológicos de los pacientes con epilepsia farmacorresistente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de investigación de tipo observacional, descriptivo, retrospectivo y transversal en el Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, en un periodo comprendido del 01-Enero-2006 al 31-Diciembre-2018. Mediante una revisión sistemática de expedientes clínicos de pacientes con el diagnóstico de epilepsia farmacorresistente, se identificaron los factores que intervinieron en dicho diagnóstico, integrándose variables como: edad, sexo, tipo de epilepsia, número de crisis, tiempo de evolución de la epilepsia, número de fármacos para su tratamiento, hallazgos histopatológicos. Para el análisis estadístico se realizaron frecuencias, proporciones y porcentajes.

TIPO DE INVESTIGACIÓN: CLÍNICA

TIPO DE DISEÑO:

De acuerdo al grado de control de la variable: Observacional.

De acuerdo al objetivo que se busca: Descriptivo.

De acuerdo al momento en que se obtendrán o evaluarán los datos: Retrospectivo.

De acuerdo al número de veces que se miden las variables: Transversal.

Lugar del estudio: Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Ubicado en: Av. Cuauhtémoc 330, Doctores, Cuauhtémoc, 06720, Ciudad de México, CDMX.

Muestra: Todos los pacientes derechohabientes en el Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, con el diagnóstico de epilepsia farmacorresistente.

Población en estudio: Todos los pacientes derechohabientes en el Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, con el diagnóstico de epilepsia farmacorresistente, en el periodo comprendido del 01-Enero-2006 al 31-Diciembre-2018.

Tipo de muestreo

No probabilístico.- La probabilidad de selección de cada unidad de la población no es conocida. La muestra es escogida por medio de un proceso arbitrario. Se utiliza con frecuencia cuando no se conoce el marco muestral.

Por casos consecutivos.- Consiste en elegir a cada unidad que cumpla con los criterios de selección dentro de un intervalo de tiempo específico o hasta alcanzar un número definido de pacientes.

DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variables				
Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Indicador
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes.	Cuantitativa Discreta	1.-AÑOS CUMPLIDOS
Sexo	Conjunto de las peculiaridades que caracterizan los individuos de una especie dividiéndolos en masculinos y femeninos.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes. Características fenotípicas de la persona objeto de estudio.	Cualitativa Nominal Dicotómica	1.-FEMENINO 2.-MASCULINO
Tipo de epilepsia	Forma de presentación clínica de la epilepsia.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes.	Cualitativa Nominal Dicotómica	1.-FOCAL 2. GENERALIZADA 3. SÍNDROME EPILEPTICO
Número de crisis por semana	Frecuencia con que se presentan las crisis epilépticas en un individuo por semana.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes.	Cuantitativa Discreta	1.-DESCRIBIR NÚMERO DE CRISIS
Tiempo de evolución de la epilepsia	Tiempo que transcurre desde la primera crisis hasta la actualidad.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes. Se categorizará en meses de evolución.	Cuantitativa Discreta	1.-DESCRIBIR TIEMPO EN MESES
Número de fármacos empleados	Cantidad de fármacos antiepilépticos usados para el tratamiento de las crisis epilépticas.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes.	Cuantitativa Discreta	1.-DESCRIBIR NÚMERO DE FÁRMACOS
Hallazgo histopatológico	Características que se pueden describir gracias al estudio de histopatología para su interpretación diagnóstica.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes.	Cualitativa Nominal Politómica	1.-DESCRIBIR HALLAZGOS
Receptor CB1	Es un dominio transmembrana perteneciente a procesos del SNC.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes, cuyo tejido cerebral se analizó por técnica de inmunocitoquímica (anexo 3).	Cualitativa Nominal Dicotómica	1.- NORMAL 2.- ALTERADO

Receptor CB2	Es un dominio transmembrana perteneciente a procesos del SNC.	Esta variable se obtendrá por medio de la revisión del expediente clínico de los pacientes, cuyo tejido cerebral se analizó por técnica de inmunocitoquímica (anexo 3).	Cualitativa Nominal Dicotómica	1.- NORMAL 2.- ALTERADO
---------------------	---	---	---	------------------------------------

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Criterios de inclusión:

- Expedientes de Pacientes menores de 16 años con diagnóstico de epilepsia farmacorresistente sometidos a cirugía de epilepsia.
- Expedientes de Pacientes de sexo masculino y femenino.

Criterios de exclusión:

- Expedientes de Pacientes con expediente clínico incompleto.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó la captura de datos en una hoja de Excel de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. Se realizó un análisis univariado aplicando las medidas de tendencia central (media y mediana), y medidas de dispersión (desviación estándar) para variables numéricas, además de frecuencias y proporciones para las variables cuantitativas.

Todo esto apoyado en hojas prediseñadas de Excel, en donde se capturó la información para su correcto análisis estadístico; el Software que se empleó fue el paquete estadístico Epi-Info 7, el cual es un programa de uso libre que no requiere licencia para su manejo, adicionalmente se empleó el programa Spss versión 25 para Windows.

ASPECTOS ÉTICOS

En el presente proyecto de investigación, el procedimiento estuvo de acuerdo con las normas éticas, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki de 1975 enmendada en 1989 y códigos y normas Internacionales vigentes de las buenas prácticas de la investigación clínica. Así mismo, el investigador principal se apegó a las normas y reglamentos institucionales y a los de la Ley General de Salud. Esta investigación se consideró como sin riesgo.

El presente estudio es el brazo del protocolo con nombre “Estudio del potencial uso terapéutico de los cannabinoideos en el control de la epilepsia resistente a fármacos” con número de registro 2017-785-089, autorizado por el Comité Nacional de Investigación en Salud, se cuenta con enmienda.

Se ha tomado el cuidado, seguridad y bienestar de los pacientes, y se respetaron cabalmente los principios contenidos en él, la Declaración de Helsinki, la enmienda de Tokio, Código de Nuremberg, el informe de Belmont, y en el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos. Dado el tipo de investigación se clasificó como sin riesgo, el investigador no tuvo participación en el procedimiento al que fueron sometidos los pacientes, el investigador solo se limitó a la recolección de la información generada y capturada en el expediente clínico, la investigación por sí misma no representó ningún riesgo para el paciente.

Sin embargo, se respetaron en todo momento los acuerdos y las normas éticas referentes a investigación en seres humanos de acuerdo con lo descrito en la Ley General de Salud, la declaración de Helsinki de 1975 y sus enmiendas, los códigos y normas internacionales vigentes para las buenas prácticas en la investigación

clínica y lo recomendado por la Coordinación Nacional de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social.

La información obtenida fue conservada de forma confidencial en una base de datos codificada para evitar reconocer los nombres de los pacientes y fue utilizada estrictamente para fines de investigación y divulgación científica.

Se tomaron en cuenta las disposiciones del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, en el Título Segundo, Capítulo primero en sus artículos: 13, 14 incisos I al VIII, 15, 16, 17 en su inciso II, 18, 19, 20, 21 incisos I al XI y 22 incisos I al V. Así como también, los principios bioéticos de acuerdo con la declaración de Helsinki con su modificación en Hong Kong basados primordialmente en la beneficencia, autonomía.

En el artículo 13 por el respeto que se tuvo por hacer prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, al salvaguardar la información obtenida de los expedientes.

Del artículo 14, en el inciso I, ya que apegado a los requerimientos de la institución y del comité local de investigación, se ajustaron a los principios éticos y científicos justificados en cada uno de los apartados del protocolo.

El investigador se rigió bajo un importante código de ética y discreción, por lo tanto, no existió la posibilidad de que la información recabada del expediente clínico con respecto a los pacientes se filtre de manera total o parcial y atente contra la vida e integridad del mismo.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Este protocolo es brazo de “Estudio del potencial uso terapéutico de los cannabinoides en el control de la epilepsia resistente a fármacos”, con número de registro 2017-785-089, autorizado por el CNIS, se cuenta con enmienda.

Una vez obtenida la autorización se procedió a la recolección de datos.

- El investigador acudió al servicio de archivo clínico en busca de los expedientes de los pacientes afines al presente proyecto.
- Se recopilaron los datos de los pacientes que contaron con el diagnóstico de epilepsia farmacorresistente.
- El investigador clasificó a los pacientes de acuerdo con lo descrito en el instrumento de recolección de datos, considerando los resultados de pacientes con el diagnóstico de epilepsia farmacorresistente, al mismo tiempo se obtuvieron las variables de interés inherentes a este estudio de investigación.
- Posteriormente a la captura de la información, se procedió a transcribir los datos de los pacientes a una hoja prediseñada de Excel, por último, se exportó al programa estadístico Epi Info 7, el cual es un Software de uso libre, el cual no requirió de licencia para su manejo.
- El investigador responsable se obligó a presentar los Informes de Seguimiento, y que una vez que el estudio fue terminado presentó el Informe de Seguimiento Técnico final, así como los informes extraordinarios que se le requirieron sobre el avance de proyecto de investigación, hasta la terminación o cancelación del mismo.

DESGLOSE DE RECURSOS A UTILIZAR

Recursos humanos:

- 1 Médico Especialista en Neurología Pediátrica.
- 1 Médico Residente Especialista en Neurología Pediátrica.

Recursos materiales:

- Los recursos materiales utilizados son de las instalaciones del Servicio de Neurología Pediátrica del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.
- Los componentes necesarios para el vaciamiento de datos es el equipo de papelería (hojas y plumas), impresiones, equipo de cómputo, sistema de vigencias de la red informática del Servicio de Neurología Pediátrica del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.
- Los recursos fueron cubiertos por los investigadores.

RESULTADOS

Se realizó un estudio de investigación en el Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Esta investigación fue diseñada y realizada por el departamento de Neurología Pediátrica del mismo hospital, la finalidad del estudio fue determinar la expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente en el Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Ciudad de México.

Una vez realizado el análisis estadístico, se han obtenido los siguientes resultados:

En el presente estudio se incluyeron 44 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, cuya distribución por edad al momento de la cirugía fue de 9 años con una DS 5.1, el número de crisis a la semana fue de un máximo de 420, el número de fármacos utilizados de 4, DS 2, la distribución por género fue mayor en el masculino, con un 66%, como lo podemos observar en las tablas 1 y 2, y el gráfico 1.

TABLA 1: Distribución de las Variables Numéricas

Distribución de las Variables Numéricas					
Tipo de Variable	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad al momento de la cirugía (años)	44	0.4	17.0	9.348	5.1346
Número de crisis a la semana	44	1.0	420.0	97.091	84.8042
Tiempo de evolución de la epilepsia (meses)	44	6.0	156.0	63.568	42.4737
Número de fármacos utilizados	44	2.0	9.0	4.364	1.8056

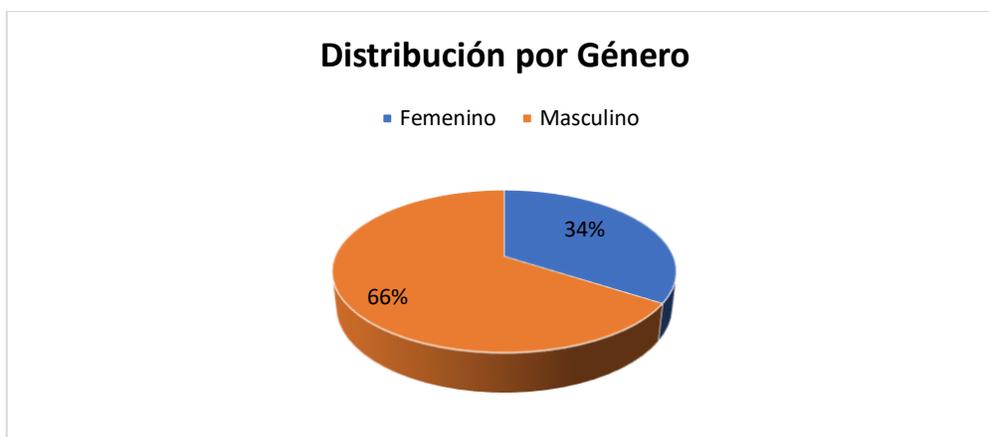
Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

TABLA 2: Distribución por Género

Distribución por Género				
Género	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Femenino	15	34	34.1	34.1
Masculino	29	66	65.9	100.0
Total	44	100.0	100.0	

Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

GRÁFICO 1: Distribución por Género



Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

Se cuenta con un comité de cirugía de epilepsia dentro del IMSS, cuya función es determinar la factibilidad de ofrecer al paciente, con diagnóstico de epilepsia farmacorresistente, un tratamiento quirúrgico, apegándonos a las indicaciones para el mismo, de ahí que la distribución por tipo de epilepsia se encuentra con mayor proporción la epilepsia focal motora con un 57.1% (n 24), seguido de la Encefalitis de Rasmussen 33.3% (n 14), como se muestra en la tabla 3.

TABLA 3: Distribución por Tipo de Epilepsia

Distribución por Tipo de Epilepsia				
Tipo de Epilepsia	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Encefalitis de Rasmussen	14	33.3	33.3	33.3
Epilepsia focal motora	24	57.1	57.1	90.4
Síndrome de Lennox-Gastaut	2	4.8	4.8	95.2
Síndrome de West	2	4.8	4.8	100.0
Total	42	100.0	100.0	

Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

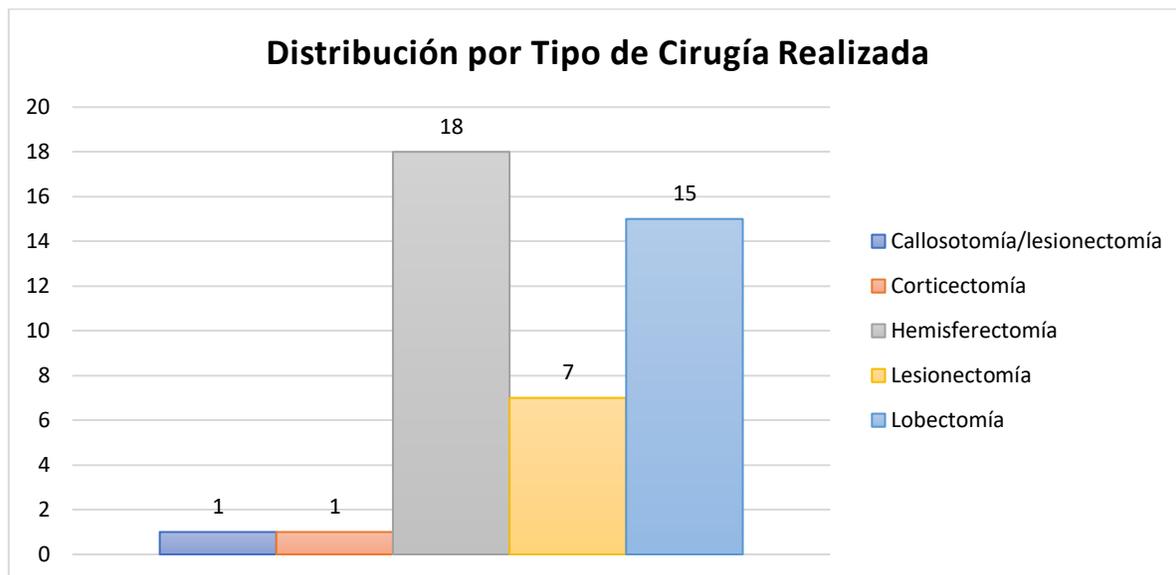
En cuanto a la cirugía realizada, a la mayor proporción de sujetos se les realizó hemisferectomía 42.9% (n 18) seguido de la lobectomía 35.7% (n 15), la distribución de porcentajes y frecuencias se muestran en la tabla 4 y gráfico 2.

TABLA 4: Distribución por Tipo de Cirugía Realizada

Distribución por Tipo de Cirugía Realizada				
Cirugía	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Callosotomía/lesionectomía	1	2.4	2.4	2.4
Corticectomía	1	2.4	2.4	4.8
Hemisferectomía	18	42.9	42.9	47.7
Lesionectomía	7	16.7	16.7	64.4
Lobectomía	15	35.7	35.7	100.0
Total	42	100.0	100.0	

Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

GRÁFICO 2: Distribución por Tipo de Cirugía Realizada



Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

Los hallazgos histopatológicos en los sujetos de estudio con mayor frecuencia fueron la displasia cortical focal 48.6% (n 18), seguida de pérdida neuronal en el 16.2% (n 6), la distribución se observa en la tabla 5.

TABLA 5: Distribución por Hallazgo Histopatológico

Distribución por Hallazgo Histopatológico				
Resultado Histopatológico	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Displasia cortical focal	18	48.6	48.6	48.6
Gliofibroma	1	2.7	2.7	51.3
Infiltrado linfocitario perivascular	5	13.5	13.5	64.8
Microglia activada	1	2.7	2.7	67.5
Pérdida neuronal	6	16.2	16.2	83.7
Sin encontrarse lesiones	1	2.7	2.7	86.4
Tumor neuroepitelial disembrionárico	5	13.5	13.5	100.0
Total	37	100.0	100.0	

Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

En relación con los valores CB se describieron las siguientes medias: CB1 en vasos de 216223.55, CB1 en células de 260355.36, CB2 en vasos de 216257.43, CB2 en células de 277293.25 (Tabla 6).

TABLA 6: Distribución de los Valores CB1 y CB2

Distribución de los Valores CB1 y CB2					
Tipo de Variable	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
CB1 Vasos	44	123425.00	338169.00	216223.55	47207.07
CB1 Células	44	31412.00	423344.00	260355.36	74571.26
CB2 Vasos	44	145560.00	338169.00	216257.43	48065.54
CB2 Células	44	184355.00	422624.00	277293.25	64673.57

Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

Con los resultados obtenidos se decidió buscar la relación de la distribución de CB1 y CB2, y los hallazgos histopatológicos, encontrando lo siguiente:

CB1 vasos las medias fueron: displasia cortical focal en 18 pacientes con media de 220680.1, gliofibroma en 1 paciente con media de 217000.0, infiltrado linfocitario perivascular en 5 pacientes con media de 226829.2, microglía activada en 1 paciente con media de 224322.0, pérdida neuronal en 6 pacientes con media de 226113.0, sin encontrarse lesiones en 1 paciente con media de 234660.0, tumor neuroepitelial disembrionárico en 5 pacientes con media de 183208.2.

En el caso de CB1 células las medias fueron: displasia cortical focal en 18 pacientes con media de 302599.5, gliofibroma en 1 paciente con media de 220000.0, infiltrado linfocitario perivascular en 5 pacientes con media de 237521.0, microglía activada en 1 paciente con media de 238302.0, pérdida neuronal en 6 pacientes con media

de 207348.3, sin encontrarse lesiones en 1 paciente con media de 254330.0, tumor neuroepitelial disembrionárico en 5 pacientes con media de 232275.6.

En el caso de CB2 vasos las medias fueron: displasia cortical focal en 18 pacientes con media de 228369.7, gliofibroma en 1 paciente con media de 275202.0, infiltrado linfocitario perivascular en 5 pacientes con media de 198661.4, microglía activada en 1 paciente con media de 207199.0, pérdida neuronal en 6 pacientes con media de 251075.8, sin encontrarse lesiones en 1 paciente con media de 246670.0, tumor neuroepitelial disembrionárico en 5 pacientes con media de 184626.8

En el caso de CB2 células las medias fueron: displasia cortical focal en 18 pacientes con media de 306281.6, gliofibroma en 1 paciente con media de 291630.0, infiltrado linfocitario perivascular en 5 pacientes con media de 240466.6, microglía activada en 1 paciente con media de 285881.0, pérdida neuronal en 6 pacientes con media de 283336.7, sin encontrarse lesiones en 1 paciente con media de 345670.0, tumor neuroepitelial disembrionárico en 5 pacientes con media de 227382.4.

Todos estos datos se encuentran en la tabla 7.

TABLA 7: Distribución por CB1 Y CB2 en Relación con los hallazgos Histopatológicos

Distribución por CB1 Y CB2 en Relación con los Hallazgos Histopatológicos									
	Tipo de Variable	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	IC 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
CB1 Vasos	Displasia Cortical Focal	18	220680.1	56855.1	13400.9	192406.7	248953.4	142234.0	338169.0
	Gliofibroma	1	217000.0					217000.0	217000.0
	Infiltrado Linfocitario Perivascular	5	226829.2	27985.8	12515.6	192080.2	261578.2	203340.0	272341.0
	Microglia Activa	1	224322.0					224322.0	224322.0
	Sin datos	7	208392.6	64570.5	24405.4	148674.8	268110.4	123425.0	325037.0
	Pérdida Neuronal	6	226113.0	27906.8	11392.9	196826.6	255399.4	198741.0	266511.0
	Sin Lesiones	1	234660.0					234660.0	234660.0
	Tumor Neuroepitelial Disembrioplásico	5	183208.2	16111.8	7205.4	163202.7	203213.7	161709.0	201709.0
Total	44	216223.5	47207.1	7116.7	201871.3	230575.8	123425.0	338169.0	
CB1 Células	Displasia Cortical Focal	18	302599.5	84887.5	20008.2	260385.9	344813.1	202749.0	423344.0
	Gliofibroma	1	220000.0					220000.0	220000.0
	Infiltrado Linfocitario Perivascular	5	237521.0	11265.1	5037.9	223533.5	251508.5	223345.0	253195.0
	Microglia Activa	1	238302.0					238302.0	238302.0
	Sin datos	7	243305.7	46745.8	17668.3	200073.0	286538.4	193344.0	323360.0
	Pérdida Neuronal	6	207348.3	91229.1	37244.1	111609.3	303087.4	31412.0	293940.0
	Sin Lesiones	1	254330.0					254330.0	254330.0
	Tumor Neuroepitelial Disembrioplásico	5	232275.6	20426.6	9135.0	206912.7	257638.5	214574.0	262658.0
Total	44	260355.4	74571.3	11242.0	237683.6	283027.1	31412.0	423344.0	
CB2 Vasos	Displasia Cortical Focal	18	228369.7	53700.7	12657.4	201664.9	255074.4	156600.0	338169.0
	Gliofibroma	1	275202.0					275202.0	275202.0
	Infiltrado Linfocitario Perivascular	5	198661.4	46206.5	20664.2	141288.4	256034.4	145560.0	254332.0
	Microglia Activa	1	207199.0					207199.0	207199.0
	Sin datos	7	178958.0	29666.5	11212.9	151521.1	206394.9	148860.0	238400.0
	Pérdida Neuronal	6	251075.8	27269.5	11132.7	222458.2	279693.5	224433.0	299794.0
	Sin Lesiones	1	246670.0					246670.0	246670.0
	Tumor Neuroepitelial Disembrioplásico	5	184626.8	22882.6	10233.4	156214.3	213039.3	147080.0	204430.0
Total	44	216257.4	48065.5	7246.2	201644.2	230870.7	145560.0	338169.0	
CB2 Células	Displasia Cortical Focal	18	306281.6	74547.2	17570.9	269210.2	343353.0	204480.0	422624.0
	Gliofibroma	1	291630.0					291630.0	291630.0
	Infiltrado Linfocitario Perivascular	5	240466.6	34900.0	15607.8	197132.5	283800.7	184355.0	273452.0
	Microglia Activa	1	285881.0					285881.0	285881.0
	Sin datos	7	246484.0	67770.0	25614.6	183807.2	309160.8	204338.0	396070.0
	Pérdida Neuronal	6	283336.7	33528.6	13688.0	248150.6	318522.7	234466.0	328860.0
	Sin Lesiones	1	345670.0					345670.0	345670.0
	Tumor Neuroepitelial Disembrioplásico	5	227382.4	16962.9	7586.0	206320.2	248444.6	206600.0	246000.0
Total	44	277293.3	64673.6	9749.9	257630.7	296955.8	184355.0	422624.0	

Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

La distribución por CB1 y CB2 en relación entre grupos fue la siguiente:

CB1 vasos entre grupos presentó una media cuadrática de 1113160150.1, una F de 0.46 y una p de 0.86, la cual no representa una significancia estadística; y dentro de grupos presentó una media cuadrática de 2445380808.2. CB1 células entre grupos presentó una media cuadrática de 8530875724.2, una F de 1,71 y una p de 0.14, la cual no representa una significancia estadística; y dentro de grupos presentó una media cuadrática de 4983371772.6. CB2 vasos entre grupos presentó una media cuadrática de 4383628518.6, una F de 2.30 y una p de 0.05, la cual no representa una significancia estadística; y dentro de grupos presentó una media cuadrática de 1907148263.4. CB2 células entre grupos presentó una media cuadrática de 6597229318.3, una F de 1.78 y una p de 0.12, la cual no representa una significancia estadística; y dentro de grupos presentó una media cuadrática de 3713172452.3 (Tabla 8).

TABLA 8: Distribución por CB1 Y CB2 en Relación entre grupos.

Distribución por CB1 Y CB2 en Relación entre grupos						
	Relación entre Grupos	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p
CB1 Vasos	Entre grupos	7792121050.7	7.0	1113160150.1	0.46	0.86
	Dentro de grupos	88033709094.3	36.0	2445380808.2		
	Total	95825830144.9	43.0			
CB1 Células	Entre grupos	59716130069.7	7.0	8530875724.2	1.71	0.14
	Dentro de grupos	179401383814.5	36.0	4983371772.6		
	Total	239117513884.2	43.0			
CB2 Vasos	Entre grupos	30685399630.0	7.0	4383628518.6	2.30	0.05
	Dentro de grupos	68657337482.8	36.0	1907148263.4		
	Total	99342737112.8	43.0			
CB2 Células	Entre grupos	46180605228.2	7.0	6597229318.3	1.78	0.12
	Dentro de grupos	133674208282.0	36.0	3713172452.3		
	Total	179854813510.3	43.0			

Fuente: Departamento de Neuropediatría del CMN Siglo XXI del IMSS en la CDMX.

DISCUSIÓN

Se incluyeron en esta investigación expedientes del 01-Enero-2006 al 31-Diciembre-2018.

La ILAE recomienda que ante una primera crisis epiléptica se intente determinar la etiología, las cuales se dividen en seis grupos: estructural, genética, infecciosa, metabólica, inmunitaria y desconocida², en esta última se centran la mayoría de investigaciones, las cuales se realizan con la finalidad de que una vez identificada la causa, trabajar en el tratamiento.

Se ha referido que la farmacorresistencia se ha relacionado con diversos factores, entre ellos: un alto número de crisis en fases tempranas del desarrollo, anomalías estructurales del sistema nervioso central, condiciones genéticas, infecciosas, inmunes y metabólicas; una fracción de estos pacientes tampoco son susceptibles de tratamiento quirúrgico, situación que complica aún más el control.³

Para este trabajo se exploraron 44 expedientes de pacientes con epilepsia farmacorresistente, en búsqueda de tener la mayor cantidad de información con respecto a las variables integradas. Dentro de los resultados encontramos que la media de edad al momento de la cirugía fue de 9 años, un buen momento de acuerdo a la literatura, la cual dicta que antes de los 21 años se realiza la mayor cantidad de cirugía de epilepsia, cuya decisión debe tomarse con cautela, ya que la selección de los pacientes con epilepsia refractaria aptos para intervención quirúrgica requiere de un exhaustivo análisis de un equipo multidisciplinario, que

incluyen al neurólogo pediatra, neuropsicólogo, neurofisiólogo, neurorradiólogo, neuropatólogo y neurocirujano.

Dentro de la definición de la epilepsia refractaria o farmacorresistente se ha determinado el fracaso en el control de crisis con dos fármacos a dosis óptimas y posología adecuada, y se ha encontrado que un tercer o cuarto fármaco atribuye un mínimo porcentaje para el control de crisis, los sujetos incluidos en esta tesis fueron manejados con 4 fármacos en promedio, lo cual evidencia lo descrito previamente.

La distribución por género fue en proporción 2:1, masculino:femenino, aunque bien se sabe que la epilepsia no tiene predominio de género, integramos que la razón por la cual nuestra población tuvo estos resultados es debido a que la segunda patología en frecuencia que se opera en nuestro centro es la encefalitis de Rasmussen, cuya presentación es mayor en el género masculino, lo cual puede explicar los resultados, siendo este un sesgo de selección en nuestro trabajo.

En cuanto a la cirugía realizada, a la mayor proporción de sujetos se les realizó hemisferectomía; los hallazgos histopatológicos corresponden a displasia cortical focal, todo ello se ha encontrado en la literatura y coincide con nuestros resultados.

Se ha descrito que la capacidad para la protección neuronal en casos de lesión, y la habilidad de los receptores CB1 y CB2, son importantes para controlar, a través de sus vías de señalización, la generación y maduración neuronal durante diversos estados de desarrollo.¹⁷

La importancia de los receptores CB1 y CB2 en el desarrollo y protección neuronal ha permitido evidenciar que participan en la neurogénesis secundaria a eventos adversos, induciendo la migración celular a las áreas lesionadas.²¹

No existe en la literatura un estudio de los receptores CB1 y CB2 relacionados con la epilepsia farmacorresistente, el objetivo de este estudio fue encontrar algún punto de referencia que nos de pauta para definir si es factible la investigación en este campo, en un estudio donde se describió el *single-knockout* y *doble-knockout* para receptores CB1 y CB2 realizado en modelos murino, se concluyó que los ratones doble-knockout desarrollaban diferentes alteraciones en el comportamiento aunado al desarrollo de fenotipos más severos de epilepsia, comparado con los ratones single-knockout los cuales no presentaron crisis epilépticas espontáneas, sin embargo, los ratones con delección del CB1 presentaron una mortalidad similar a los doble-knockout, las causas de mortalidad fueron diferentes a actividad convulsiva.²⁴

Por otro lado, se describió que la ausencia de ambos receptores permitía una actividad neuronal aumentada sin contar con la regulación negativa de las vías inhibitorias de los cannabinoides.²⁴

Por lo que, al no contarse con los receptores (CB1 y CB2) se veían afectados los procesos de proliferación, plasticidad neuronal, entre otros, ocasionando cambios en el desarrollo neuronal que contribuyeron a la epileptogénesis, en este estudio se demostró que los cerebros de estos ratones tenían apariencia macroscópica normal y fueron necesarios otros estudios para determinar los cambios.²⁴

Los valores de CB se presentaron con las siguientes medias: CB1 vasos de 216223.55, CB1 células de 260355.36, CB2 vasos de 216257.43, CB2 células de 277293.25.

En referente con la distribución por CB1 y CB2, y en relación con el resultado anómalo de histopatología se describió que las medias más altas fueron: en CB1 vasos el infiltrado linfocitario perivascular presente en 5 pacientes tuvo una media de 226829.2; en CB1 células la displasia cortical focal presente en 18 pacientes tuvo una media de 302599.5; en CB2 vasos el gliofibroma presente en 1 paciente tuvo una media de 275202.0; en CB2 células la displasia cortical focal presente en 18 pacientes tuvo una media de 306281.6.

Mientras que las medias más bajas fueron: en CB1 vasos el tumor neuroepitelial disembrionárico visto en 5 pacientes con una media de 183208.2; en CB1 células fue pérdida neuronal visto en 6 pacientes con una media de 207348.3; en CB2 vasos fue tumor neuroepitelial disembrionárico visto en 5 pacientes con una media de 184626.8; en CB2 células fue tumor neuroepitelial disembrionárico visto en 5 pacientes con una media de 227382.4.

En relación con los grupos formados, las medias cuadráticas más altas fueron: en CB1 vasos y dentro de grupos con media cuadrática de 2445380808.2; CB1 células y entre grupos con media cuadrática de 8530875724.2; en CB2 vasos y entre grupos con media cuadrática de 4383628518.6; en CB2 células y entre grupos con media cuadrática de 6597229318.3.

El concluir que nuestros resultados no cuentan con significancia estadística, no lo limita a un estudio más, sino a un nuevo enfoque para el estudio de la epilepsia farmacorresistente, por lo que es importante, derivado de todo lo escrito con anterioridad y con la finalidad de aumentar la precisión de los resultados en estudios posteriores, se considera que este estudio debería ser replicado en años subsecuentes, con un incremento en el tamaño de muestra y precisando ser prospectivo, ya que esto nos daría la facilidad de contar con todas las variables clínicas y paraclínicas de nuestros sujetos de estudio; por otro lado el campo de estudio de la epilepsia es vasto y nos obliga a explorar cualquier posibilidad con el propósito de buscar alternativas diagnósticas y terapéuticas para este padecimiento.

CONCLUSIONES

La presente investigación fue realizada basado en la premisa mayor la cual indica: Determinar la relación que guarda la expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente en el Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Ciudad de México.

Adicionalmente se han obtenido las siguientes conclusiones:

- El tipo de epilepsia más frecuente que se presentó fue epilepsia focal motora.
- El hallazgo histopatológico más frecuente fue la displasia cortical focal.
- No hubo relación de significancia estadística entre la expresión de los receptores CB1 y CB2 en tejido cerebral de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fisher R., Acevedo C., Arzimanoglou A., Bogacz A., Cross H, Elger C., et al. A practical clinical definition of epilepsy. ILAE Official Report [Internet] 2014; [Citado en 2020 julio 12]; 55(4):475–482.
2. Scheffer I., Berkovic S., Capovilla G., Connolly M., French J., Guilhoto L., et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. ILAE Position Paper [Internet] 2017; [Citado en 2020 julio 12]; 58(4):512–521.
3. Kwan P., Arzimanoglou A., Berg A., Brodie M., Hauser W., Mathern G., et al. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. ILAE Special Report [Internet] 2010; [Citado en 2020 julio 12]; 51(6):1069–1077.
4. Moya J. Epilepsia Refractaria: Conceptos fundamentales y aspectos clínicos. Capítulo Chileno de la ILAE [Internet] 2019; [Citado en 2020 julio 12]; 0717-5337.
5. Hui L., Mackie K. An introduction to the endogenous cannabinoid system. Biological Psychiatry. Biological Psychiatry [Internet] 2015; [Citado en 2020 julio 13].
6. Hryhorowicz S., Walczak M., Zakerska O., Słom R. Pharmacogenetics of Cannabinoids. Eur J Drug Metab Pharmacokinet [Internet] 2017 [Citado en 2020 julio 13]; 43: 1- 12.
7. Agar E. The role of cannabinoids and leptin in neurological diseases. Acta Neurol Scand [Internet] 2015; [Citado en 2020 julio 13]; 132: 371-380.

8. Busquets A., Soria E., Bellocchio L., Marsicano G Cannabinoid receptor type-1: breaking the dogmas [version 1; peer review: 3 approved]. *F1000Res* [Internet] 2016; [Citado en 2020 julio 13]; 5:990.
9. Hedrich J., Angamo E., Conrad A. Lutz B., Luhmann H. Cell type specific impact of cannabinoid receptor signaling in somatosensory barrel map formation in mice. *J Comp Neuro* [Internet] 2019 [Citado en 2020 julio 13]; 528:7–17.
10. Franco R, Villa M., Morales P., Reyes I., Gutiérrez I., Jiménez J., et al. Increased expression of cannabinoid CB2 and serotonin 5-HT1A heteroreceptor complexes in a model of newborn hypoxic-ischemic brain damage. *Neuropharmacology* [Internet] 2019 [Citado en 2020 julio13]; 58-66.
11. Ying Y., Lexiao L., Nguyen D., Mustafa S., Moore B., Jianxiong J. Inverse Agonism of Cannabinoid Receptor Type 2 Confers Anti-inflammatory and Neuroprotective Effects Following Status Epileptics. *Mol Neurobiol* [Internet] 2020 [Citado en 2020 julio 14].
12. Campbell C., Shaw M., Manasco K. Cannabinoids in Pediatrics. *Pediatr Pharmacol* [Internet] 2017 [Citado en 2020 julio 14]; 22(3):176–185.
13. Dow D., Silva L. Endocannabinoids in brain plasticity: cortical maturation, HPA axis function and behavior. *Brain reserch.* [Internet] 2016 [Citado en 2020 julio 14] 1654:157-164.
14. Sugaya Y., Yamazaki M., Uchigashima M., Kobayashi K., Watanabe M., Sakimura K., et al. Crucial Roles of the Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol in

the Suppression of Epileptic Seizures. *Cell Rep* [Internet] 2016 [Citado en 2020 julio 14]; 16(5):1405-1415.

15. Angelats E., Requesens M., Aguinaga D., Kreutz M., Franco R., Navarro G. Neuronal Calcium and cAMP Cross-Talk Mediated by Cannabinoid CB1 Receptor and EF-Hand Calcium Sensor Interactions. *Front Cell Dev Biol.* [Internet] 2018 [Citado en 2020 julio 15]; 6:67.

16. Oliveira R., Oliveira C., Guimarães F., Campos A. Cannabinoid signalling in embryonic and adult neurogenesis: possible implications for psychiatric and neurological disorders. *Acta Neuropsychiatrica* [Internet] 2018 [Citado en 2020 julio 14]; 1- 16.

17. Sagredo O., Palazuelos J., Gutierrez A., Satta V., Galve I., Martínez J. Cannabinoid signalling in the immature brain: Encephalopathies and neurodevelopmental disorders. *Biochemical Pharmacology* [Internet] 2018 [Citado en 2020 julio 15]; 85-96.

18. Oliveira G., Robin L., Drago F., Mariscano G., Metna M. Astroglial Type-1 Cannabinoid Receptors (CB1): A new player in the tripartite synapse. *Neuroscience* [Internet] 2015 [Citado en 2020 julio 15]; 323:35-42.

19. Saez T., Fernandez I., Rodriguez M., Alloatti M., Otero M., Cromberg L., et al. Kinesin-1-mediated axonal transport of CB1 receptors is required for cannabinoid dependent axonal growth and guidance. *Development* [Internet] 2020 [Citado en 2020 julio 16]; 38:205-8.

20. Njoo C., Agarwal N., Lutz B., Kuner R. The Cannabinoid Receptor CB1 Interacts with the WAVE1 Complex and Plays a Role in Actin Dynamics and Structural Plasticity in Neurons. *PLoS Biol* [Internet] 2015 [Citado en 2020 julio 15]; 13(10):e1002286.
21. Turunen P., Louhivuori L., Louhivuori V., Kukkonen J., Åkerman K. Endocannabinoid signaling in embryonic neuronal motility and cell-cell contact – Role of mGluR5 and TRPC3 channels. *Neuroscience* [Internet] 2018 [Citado en 2020 julio 15]; 375:135-148.
22. García D., Díaz J., Paraíso J., Ortega Z, Aguarales J., Salas A., et al. Contribution of Altered Endocannabinoid System to Overactive mTORC1 Signaling in Focal Cortical Dysplasia. *Front Pharmacol* [Internet] 2019 [Citado en 2020 julio 15]; 9:1508.
23. Díaz J., Salas A., Paraíso J, Garcia D., Garcez P., Parsons M. Loss of Cannabinoid CB1 Receptors Induces Cortical Migration Malformations and Increases Seizure Susceptibility. *Cereb Cortex* [Internet] 2017 [Citado en 2020 julio 16]; 27: 5303–5317.
24. Rowley S., Sun X., Lima I, Tavenier A., Pinheiro A., Dey S., et al. Cannabinoid receptor 1/2 double-knockout mice develop epilepsy [Internet] 2017. *Epilepsia* [Citado en 2020 julio 16]; 58(12): e162–e166.
25. Wu Q., Zhang M., Liu X., Zhang J., Wang H. CB2R orchestrates neuronal autophagy through regulation of the mTOR signaling pathway in the hippocampus of

developing rats with status epilepticus. *Int J Mol Med* [Internet] 2019 [Citado en 2020 julio 16]; 45: 475-484.

26. Gandhi K., Montoya V., Martinez S., David S., Jain B., Shim G., et al. Ontogeny and programming of the fetal temporal cortical endocannabinoid system by moderate maternal nutrient reduction in baboons (*Papio spp.*). *Physiol Rep.* [Internet] 2019 [Citado en 2020 julio 17]; 7(6):e14024.

27. Anastasia S. Suraev, Lisa Todd, Michael T. Bowen, David J. Allsopa, Lain S. McGregor, Et al. An Australian nationwide survey on medicinal cannabis use for epilepsy: History of antiepileptic drug treatment predicts medicinal cannabis use. Published by Elsevier Inc. [Internet] 2017 [Citado en 2020 julio 16] *Epilepsy & Behavior* 70 (2017) 334–340.

ANEXOS

ANEXO 1. INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

	<p>Instituto Mexicano del Seguro Social Jefatura de Prestaciones Médicas Coordinación de Planeación y Enlace Institucional Coordinación Auxiliar de Investigación en Salud Centro Médico Nacional Siglo XXI Hospital de Pediatría Ciudad de México Cédula de Recolección de Datos</p>					
“EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 Y CB2 EN TEJIDO CEREBRAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE”						
NOMBRE:		NSS:				
Ficha de Identificación						
Edad:	_____	Género:	_____			
Tipo de epilepsia:	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; text-align: center;"> <tr><td>Focal</td></tr> <tr><td>Generalizada</td></tr> </table>			Focal	Generalizada	
Focal						
Generalizada						
Tiempo de evolución de epilepsia:	_____					
Número de crisis:	_____					
Número de fármacos empleados:	_____					
Hallazgos histopatológicos:	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; width: 80%;"> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> </table>					
Receptor CB1:	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; width: 80%;"> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> </table>					
Receptor CB2:	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; width: 80%;"> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> </table>					
Dra. Flor Verónica García Licerio Departamento de Neurología Pediátrica						

ANEXO 2. CARTA DE NO INCONVENIENTE



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE PEDIATRÍA

Ciudad de México a 31 de julio del 2020

Asunto: CARTA DE NO INCONVENIENCIA

C. DRA. ROCÍO CÁRDENAS NAVARRETE

DIRECTOR

PRESENTE:

Por medio de la presente solicito a usted la autorización para realizar la revisión de expedientes clínicos del área de archivo clínico con el fin de llevar a cabo el protocolo de estudio: **“EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 Y CB2 EN TEJIDO CEREBRAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE”**, el cual se llevará a efecto en las instalaciones que se encuentran a su cargo.

Me despido agradeciendo su atención y comprensión poniéndome a su disposición para cualquier aclaración o duda.

ADD: La revisión de expedientes se realizará a partir de obtener el número de registro.

No tener conflicto de intereses

Acuerdo con el artículo 63 de la Ley General de Salud en materia de Investigación y al capítulo 7 numeral 4.5 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, declaro bajo protesta de decir la verdad:

1. Al advertir alguna situación de conflicto de interés real, potencial o evidente del protocolo o alguno de los participantes, lo comunicaré al Presidente o Secretario del Comité de Investigación para estudios retrospectivos.
2. Declaro que no estoy sujeto a ninguna influencia directa por algún fabricante, comerciante o persona moral mercantil de los procesos, productos, métodos, instalaciones, servicios y actividades a realizar en el desarrollo del proyecto de investigación.

ATENTAMENTE:

Dra. Araceli Reyes Cuayahuitl
Investigador principal

Dr. Dario Rayo Mares
Jefe del Servicio de Neurología

ANEXO 3. TÉCNICA INMUNOCITOQUÍMICA PARA CB1 Y CB2

Los tejidos cerebrales obtenidos en la cirugía fueron fijados en paraformaldehído al 4%, deshidratados y embebidos en parafina, se seccionaron coronalmente usando un microtomo con un grosor de 6 μm (Leica RM2125RT, Alemania) y se tiñeron con hematoxilina y eosina (H & E). Estas secciones fueron para una evaluación inicial para definir características citoarquitectónicas y patológicas; en estas mismas muestras se realizó la técnica de inmunoperoxidasa para identificar neuronas (NeuN; laboratorios de Roche) y gliosis (laboratorios GFAP; Dako). La tinción para el anticuerpo CB1 (sc-293419 de Santa Cruz Biotechnology) y CB2 (sc-293188, Santa Cruz Biotechnology) se realizó con un sistema automatizado para inmunocitoquímica con la finalidad de reducir la variación en la tinción con BOND-III Estación de IHC de la compañía Leica Biosystem, la dilución del anticuerpo primario para el equipo fue de 1:500 y el sistema de detección utilizado fue un sistema de anticuerpos HD BOND RTU Compact Polymer (Novocastra, Leica Biosystems) las laminillas se montaron al final del procesamiento con resina Entellan (Merck Millipore).

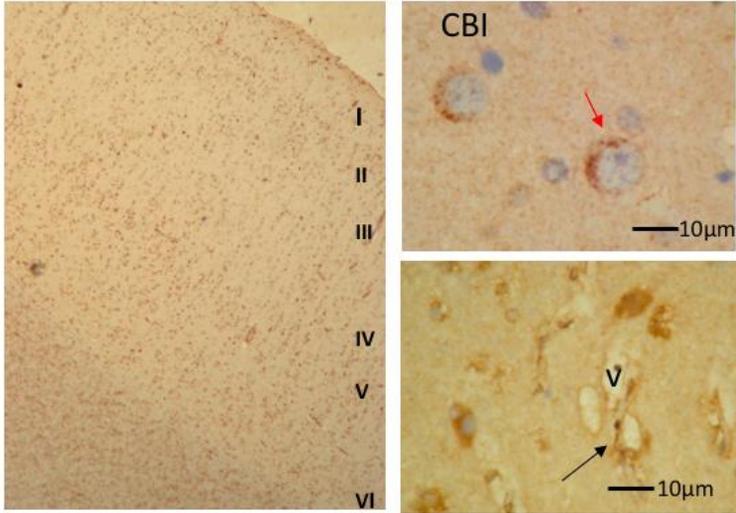
Para realizar las inmunocitoquímicas de NeuN y GFAP se realizó la técnica siguiente: Los cortes se desparafinaron e hidrataron, seguido de la recuperación de antígenos con el buffer Diva (Biocare Medical, Concord, CA, EE. UU.), utilizando una olla a presión durante 20 minutos. Las secciones se lavaron con 0,12 M de PBS-Triton (PBS más detergente Triton), pH 7,2-7,6. Las peroxidases endógenas se inhibieron con peróxido de hidrógeno al 0,5% (H_2O_2) durante 10 minutos y los antígenos no específicos se bloquearon con suero bovino normal (1: 200 en PBS)

durante 30 minutos. A continuación, el tejido se incubó con una dilución 1:500 de un anticuerpo anti-NeuN, Iba y GFAP en PBS durante 24 horas a 4° C, se lavó dos veces y se incubó con el anticuerpo secundario anti-IgG-peroxidasa anti-ratón (1:200, Vector Laboratories) y anti-IgG-peroxidasa de conejo (1:500) en PBS 0,12 M durante 3 horas. Se realizaron dos lavados con PBS 0,12 M para eliminar el exceso de anticuerpo secundario. La tinción se desarrolló con un kit de cromógeno de 3,3-diaminobencidina (DAB) (Biocare Medical, Concord, CA, EE. UU.), durante 5 minutos y se lavó cuidadosamente con agua destilada durante 5 minutos. En el caso de GFAP, el tejido se tiñó con hematoxilina Harris. Las secciones se deshidrataron nuevamente y se montaron con resina sintética Entellan (Merck Millipore).

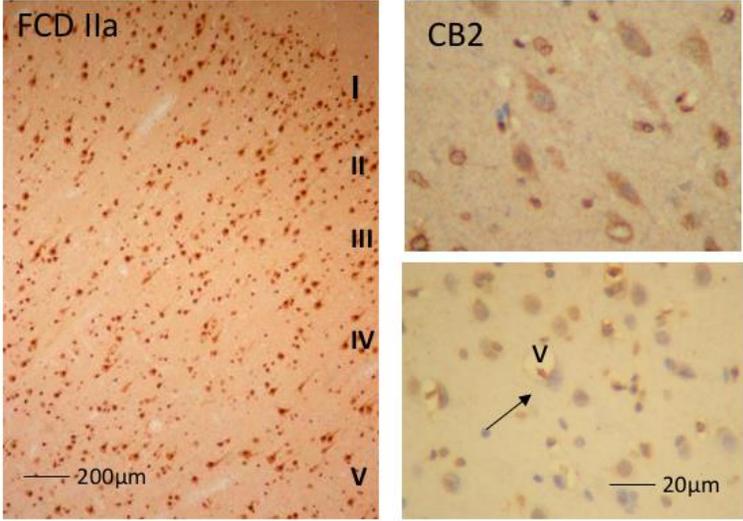
Cuantificación de expresión de CB1 y CB2

La cuantificación de cada anticuerpo se contó en secciones de cada 100 micras en campos de 330 micras cuadrados en los vasos sanguíneos y la corteza cerebral, se tomaron imágenes en imágenes digitales obtenidas previamente con un microscopio óptico (Eclipse Ni; Nikon, Japón) y el software Fiji Image J (NIH, USA). La densidad fue evaluada eliminando el color que generó imágenes en blanco y negro, los valores se representaron como la suma de las áreas de cada estructura que el programa cuantificó en píxeles en un mapa de bits y se expresó como el número de píxeles en 300 micras².

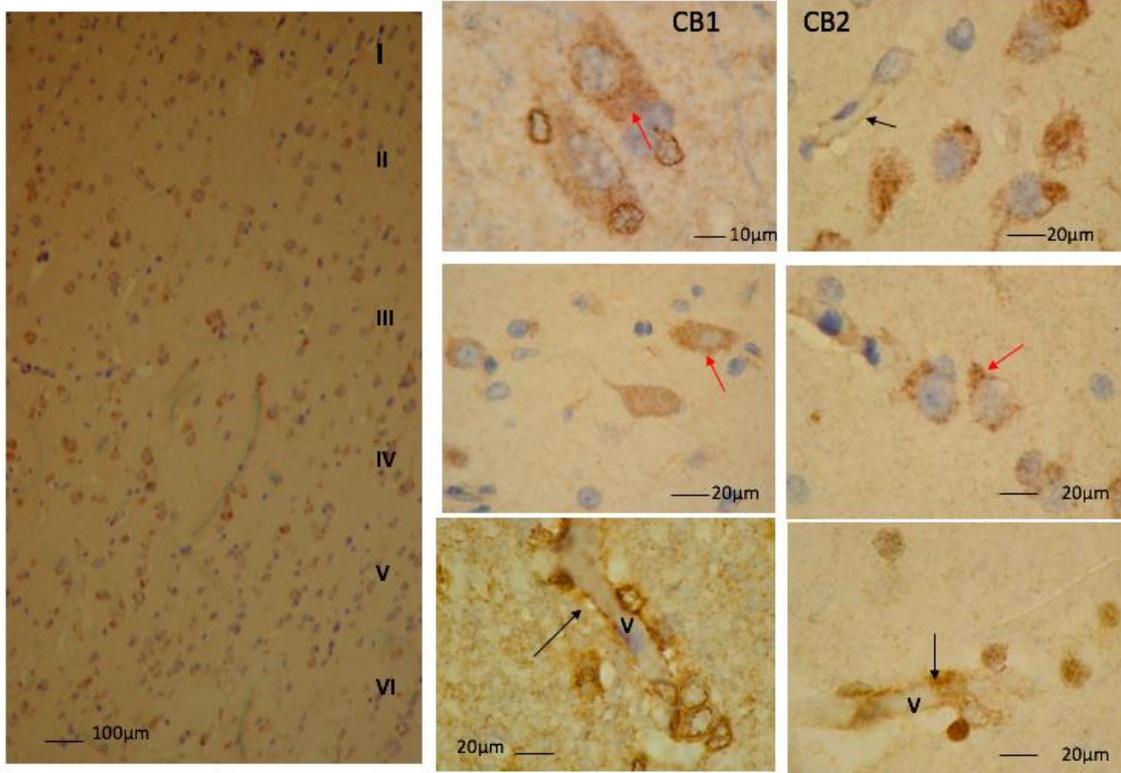
ANEXO 4. FIGURAS



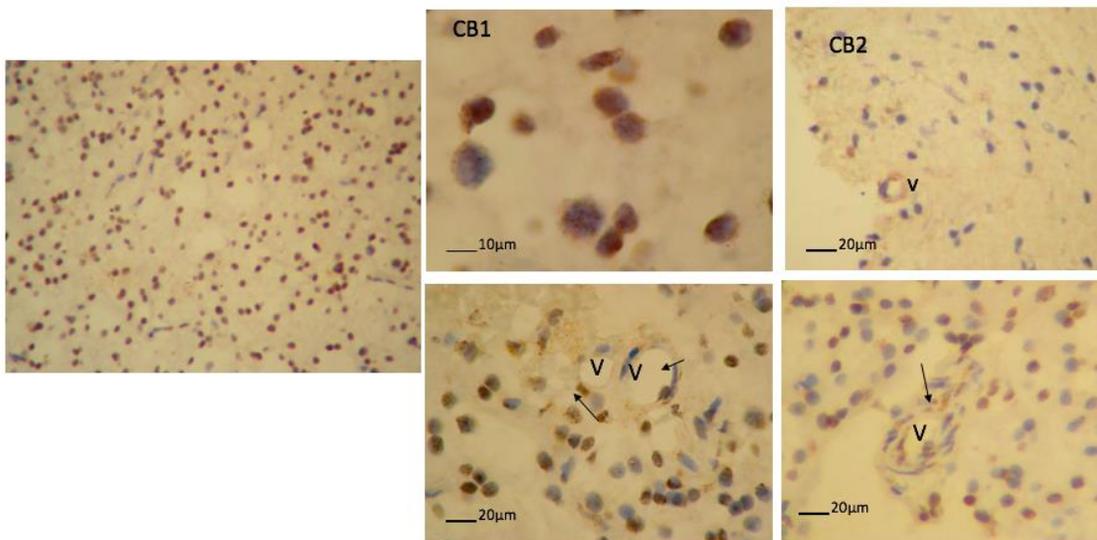
Displasias

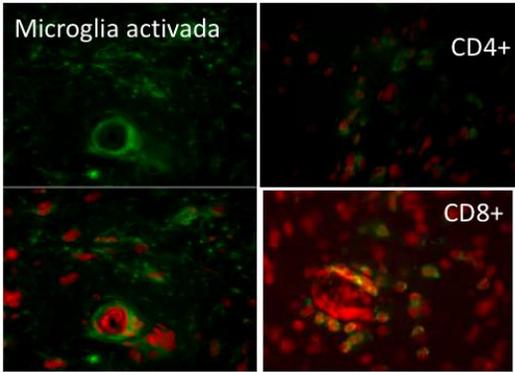
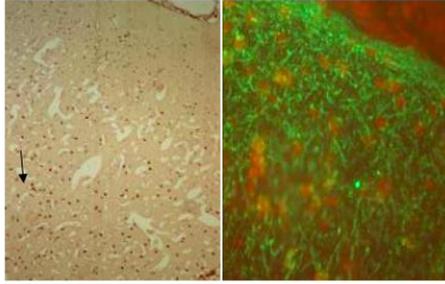
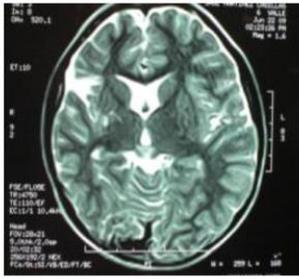


Hemimegalencefalia (FCD IIb)

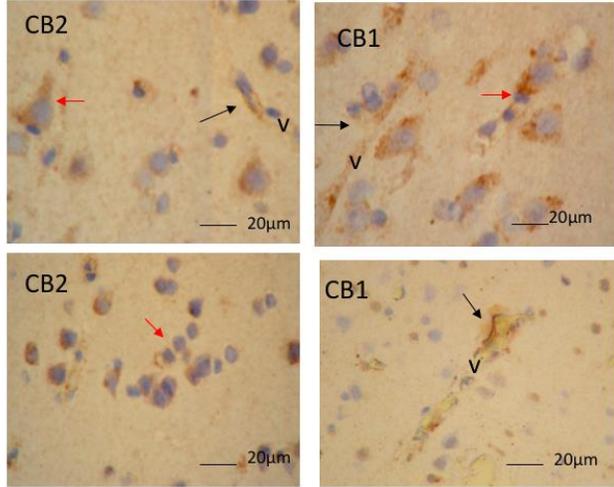


TUMOR DISEMBRIOPLÁSICO





Rasmussen



ANEXO 5.

MEXICO
COMITÉ NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud
Comisión Nacional de Investigación Científica



Oficio No. 09 B5 61 61 2820/2019/01248

Ciudad de México, a 11 de junio de 2019

Dra. Sandra Adela Orozco Suárez
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas
UMAE Hospital de Especialidades
Centro Médico Nacional Siglo XXI
Presente

En relación al protocolo "Estudio del potencial uso terapéutico de los cannabinoides en el control de la epilepsia resistente a fármacos", con número de registro 2017-785-089, el Comité de Investigación, COFEPRIS CI: 17 CI 09 015 006, **revisó y se da por enterado** de la enmienda relativa a la inclusión de Christian Lizette Frías Soria y Flor Verónica García Licério como alumnas del proyecto.

Sin otro particular, le envío un saludo.

Atentamente,

Dra. Susana Navarrete Navarro
Comité Nacional de Investigación Científica

MSNN/ah*
2018-225

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Av. Cuauhtémoc No. 330, Col. Doctores, 4o. Piso, Bloque B de la Unidad de Congresos C.M.N. Siglo XXI
México, D.F. CP 06720, Tel. 56275900 ext. 21216