UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación de niveles de interleucinas en niños con encefalopatía epiléptica candidatos al uso de hormona adrenocorticotropa (ACTH), diagnosticados en la liga central contra la epilepsia entre los años 2013 y 2015

JOHANN SEBASTIAN ORTIZ DE LA ROSA

Universidad Nacional de Colombia.
Facultad de Medicina. Departamento de Neuropediatria.
Bogotá. Colombia
2016

Evaluación de niveles de interleucinas en niños con encefalopatía epiléptica candidatos al uso de hormona adrenocorticotropa (ACTH), diagnosticados en la liga central contra la epilepsia entre los años 2013 y 2015.

Dr. JOHANN SEBASTIAN ORTIZ DE LA ROSA.
Trabajo presentado para optar por el título de Especialista en Neuropediatría.

Co-Autora
Dra. DIANA CAROL BENÍTEZ RAMÍREZ
NEUROPEDIATRA

Directora:
Dra. ANGELICA USCATEGUI. NEUROPEDIATRA
DOCENTE CATEDRÁTICA ASOCIADA.
Codirectores:

MSc. PhD. JORGE EDUARDO CAMINOS.
Profesor Doctor CARLOS MEDINA-MALO NEUROPEDIATRA

Universidad Nacional de Colombia.
Facultad de Medicina. Departamento de Neuropediatria.
Bogotá. Colombia
2016

Contenido

1.1 JUSTIFICACIÓN VI
1.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN VII
1.3 HIPÓTESIS NULA VIII
1.4 HIPÓTESIS ALTERNATIVA VIII

2. MARCO TEÓRICO VIII

2.1 ENCEFALOPATÍAS EPILÉPTICAS VIII
2.2 EPILEPSIA E INFLAMACIÓN IX
2.3 HORMONA ADRENO-CORTICOTRÓPICA (ACTH) EN EPILEPSIA XVII

3. MÉTODOS I

3.1 OBJETIVO GENERAL I
3. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS I
3.3 DISEÑO DEL ESTUDIO II
3.4 POBLACIÓN A ESTUDIO II
3.5 TAMAÑO DE LA MUESTRA II
3.6 CRITERIOS DE INCLUSIÓN III
3.7 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN IV
3.8 PARTICIPACIÓN EN EL PROYECTO IV
3.9 TOMA DE MUESTRA V
3.10 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA V
3.11 INSTITUCIONES INVOLUCRADAS VI
3.12 ASPECTOS ÉTICOS VI

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO I

4.1 RESULTADOS I

5. DISCUSIÓN I

6. CONCLUSIONES ..... ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. I

7. CONFLICTO DE INTERESES I

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO PACIENTE CASO I

ANEXO 2. PROTOCOLO DE APLICACIÓN DE ACTH LIGA CENTRAL CONTRA LA EPILEPSIA . 3

ANEXO 3. COMITÉ DE ÉTICA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA 6

BIBLIOGRAFÍA 8

RESUMEN

Introducción: La encefalopatía epiléptica es una condición de agravamiento de una epilepsia, que generalmente implica un deterioro motor, cognitivo y comportamental en un paciente con epilepsia, ésta se asocia con la actividad epileptiforme interictal, aunque éste podría no ser el único mecanismo para que se cumpla el desarrollo de la misma. Por definición las encefalopatías epilépticas son entidades refractarias al tratamiento convencional con fármacos anticonvulsivantes, por lo que existen tratamientos no convencionales cómo el ACTH para el tratamiento de las mismas.

Materiales y métodos: Durante los años 2013 al 2015 se reclutaron en la Liga Central Contra la Epilepsia 10 pacientes con encefalopatías epilépticas, 4 de ellos con síndrome de Lennox-Gastaut , 3 de ellos con epilepsias focales sintomáticas, 2 de ellos con síndrome de Doose y uno con síndrome de Landau-Kleffner. A todos los pacientes se les realizó una medición de interleucinas pro y anti-inflamatorias antes del inicio de la terapia con ACTH y tras tres meses de tratamiento.

Resultados: Los valores y las modificaciones de interleucinas 1-RA,IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL17 IL-10 no fueron estadísticamente significativos, la única interleucina que mostró una variación hacia la alta con una significancia estadística de 0.036 fue la IL-6. El 68.4% de los pacientes logró control total de crisis, el número de medicamentos utilizados no se modificó de forma significativa, hubo avances en

términos de neurodesarrollo reportados por los padres y evidenciados en algunos de ellos con evaluaciones del mismo a través de herramientas cómo el WISC-IV o la escala de desarrollo de Griffiths

Discusión: Las interleucinas han sido ampliamente estudiadas cómo parte de los mecanismos de epileptogénesis, lo que las convierte en un blanco terapéutico importante en pacientes con encefalopatía epiléptica, diferentes estudios en modelos animales y en humanos han demostrado su papel preponderante en la perpetuación de las crisis convulsivas, nuestro estudio mostró una elevación de la IL-6 posterior al tratamiento con ACTH lo que puede estar en relación con los mecanismos de defensa neuronal de limitación de la propagación del impulso eléctrico y la utilización de neurotransmisores neuroprotectores, lo que podría en parte explicar el control de crisis logrado en nuestra cohorte.

Conclusiones: El tratamiento con ACTH para diferentes tipos de encefalopatía epiléptica, es seguro y eficaz, logrando control de crisis > 50% de los pacientes, además de controlar las convulsiones, mejora el neurodesarrollo en la mayoría de los pacientes, de ésta manera impactando de forma relevante en la calidad de vida de los pacientes.

ABSTRACT

Introduction: The term epileptic encephalopathy is referred as a worsening condition of epilepsy syndromes, which generally implies a motor, cognitive and behavioral deterioration in a patient with epilepsy, which is associated with interictal epileptiform activity, although this may not be the only mechanism responsible for the development of epileptic encephalopathy. By definition, epileptic encephalopathies are entities that are usually refractory to conventional treatment with anticonvulsive drugs, therefore are unconventional treatments such as ACTH forthe treatment of this entities.

Materials and methods: During the years 2013 to 2015, at Liga Central Contra la Epilepsia, 10 patients with epileptic encephalopathies were enrolled, 4 of them with Lennox-Gastaut syndrome, 3 of them with symptomatic focal epilepsies, 2 of them with Doose syndrome, and 1 with Landau Kleffner syndrome. All patients underwent previous measurement of anti-inflammatory and pro-inflammatory interleukins prior to the start of ACTH therapy and after three months of treatment.

RESULTS: Interleukin 1-RA, IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-17 IL-10 modifications were not statistically significant, the only interleukin that showed an increase, with a statistical significance of 0.036 was IL-6. 68.4% of the patients achieved total seizure control, the number of medications used did not differs significantly. There were advances in terms of neurodevelopment reported by the parents and evidenced in some of them with evaluations made by whether WISC-IV or Griffiths Development scale.

Discussion: Interleukins have been widely studied as part of epileptogenesis mechanisms, making them an important therapeutic target in patients with epileptic encephalopathy, different studies in animal models and in humans have demonstrated their preponderant role in the perpetuation of seizures. Our study showed an elevation of IL-6 post-treatment with ACTH which may be related to the neuronal defense mechanisms of limiting the propagation of the electrical impulse and the rol of neuroprotective neurotransmitters, which could in part explain the seizure control achieved in our cohort.

Conclusions: ACTH treatment for different types of epileptic encephalopathy is safe and effective, achieving seizure control of > 50% of patients, in addition to controlling seizures, improves neurodevelopment in most patients, thus impacting in a relevant way in the quality of life of patients with different types of epileptic encephalopathies.

Palabras Clave: Epilepsia, Encefalopatía epiléptica, Inflamación, ACTH, Interleucinas

Key Words: Epilepsy, Epileptic encephalopathy, Inflammation, ACTH, Interleukins

1. **Planteamiento del problema**

Dentro de la clasificación de la epilepsia, desde el Task Force de 2001 hasta la propuesta de modificación de la clasificación del año 2009, se ha considerado muy importante reconocer las encefalopatías epilépticas como una condición especial dentro del grupo de las epilepsias, principalmente por la afectación en el desempeño del individuo y el deterioro cognitivo y comportamental que causan (1,2).

Estos pacientes con encefalopatía epiléptica son generalmente niños, con un deterioro motor, sensorial, cognitivo y comportamental progresivo, asociado a la persistencia de actividad epiléptica, sean convulsiones y/o actividad epileptiforme interictal en el electroencefalograma (EEG) (1); generalmente son resistentes a diferentes tratamientos, tanto farmacológicos como quirúrgicos, lo que conlleva a una gran morbi-mortalidad, con pérdida de años de vida saludable y productiva. (1–3)

La evidencia sugiere un mecanismo inflamatorio como parte de la causa y del efecto de la perpetuación de las convulsiones en las encefalopatías epilépticas (4–17) Basándose en esta evidencia, se utiliza desde hace varias décadas el ACTH y otras terapias inmunomoduladoras en encefalopatías epilépticas, sin embargo su mecanismo de acción continúa desconocido, razón por la cual la respuesta previa al inicio del tratamiento es impredecible, pues no siempre se encuentra una respuesta efectiva en los pacientes que reciben este tratamiento. (1–13,18–20)

Desde ese punto de vista, se hace fundamental establecer bio-marcadores (21) que reflejen severidad, mecanismo fisiopatológico y pronóstico de la epilepsia, y por qué no, predigan la respuesta a terapia con inmunosupresores como el ACTH.

1.1 JUSTIFICACIÓN

Considerando la importancia de dar un adecuado tratamiento a este tipo de condiciones, que tienen graves repercusiones en desarrollo, cognición y pronóstico neurológico en general, debe considerarse, dentro de las herramientas terapéuticas, el uso de ACTH, un inmunomodulador que ha demostrado ser útil en el tratamiento del Síndrome de West (4–8,18,22–24) y en otras encefalopatías epilépticas de la infancia (9–12,18,25) La adecuada respuesta a este tipo de terapéutica hace considerar que estos pacientes tienen una respuesta inmune alterada, sin que hasta el momento se pueda establecer con exactitud cuáles son los mecanismos alterados en este tipo de pacientes (20,26–32) y cuál puede ser la mejor forma de modularla, para lograr el adecuado control de la epilepsia y de la misma manera recuperar la condición neurológica de estos pacientes.

Entre las moléculas involucradas en este proceso inflamatorio se encuentran las interleucinas (IL) (13,20,27,28,31–37) las cuales se han señalado como posibles herramientas para definir el pronóstico de los pacientes. Algunos estudios que han llevado este concepto a la práctica, han evaluado la respuesta inmune en este tipo de pacientes, con resultados variables y poco consistentes que varían de estudio a estudio (30,31,38–41)

La Liga Central Contra la Epilepsia ha desarrollado un protocolo que viene implementándose y perfeccionándose desde el año 2005, con el cual se ha logrado un control de crisis aceptable y mejoría significativa del neurodesarrollo en estos pacientes. Sin embargo, esta es una terapia con alta proporción de efectos adversos y con riesgos importantes, por lo que es ideal tener parámetros objetivos previos al inicio de la misma, que orientarán sobre la posible respuesta y el beneficio para el paciente. Se convierte en una oportunidad el convenio con la Universidad Nacional de Colombia, para aprovechar los recursos tecnológicos de la misma, en la evaluación molecular de los bio-marcadores de estos pacientes.

Con estos resultados se espera conocer mejor los mecanismos fisiopatológicos asociados a las encefalopatías epilépticas y el mecanismo por el cual puede considerarse al ACTH como un antiepiléptico; también se espera tener una herramienta paraclínica para determinar qué pacientes pueden o no beneficiarse de la terapia con ACTH. Con esto se espera ofrecer a este grupo de pacientes una terapéutica más oportuna y más específica, que lleve seleccionar los candidatos al tratamiento con ACTH, mejorar su pronóstico cognitivo y a optimizar su tratamiento.

1.2 Pregunta de investigación

¿Cómo se modifican las interleucinas proinflamatorias (IL 1β, IL2, IL6, IL7, IL12, IL17A) y antiinflamatorias (IL10, IL 1 Ra) en niños con encefalopatía epiléptica antes y después del tratamiento con hormona adrenocorticotropa (ACTH)?

1.3 Hipótesis nula

Las interleucinas no se modifican en los pacientes con encefalopatía epiléptica que reciben tratamiento con ACTH.

1.4 Hipótesis alternativa

Existen diferencias entre los niveles de interleucinas posterior al manejo con ACTH

2. Marco teórico

2.1 Encefalopatías epilépticas

La encefalopatía epiléptica es un término formalmente reconocido desde el 2006 y definido en el documento emitido por la ILAE (Internarional League Against Epilepsy) en el 2010 como "la actividad eléctrica que por sí misma contribuye a un severo deterioro cognitivo y comportamental más allá de lo esperado por la patología subyacente y susceptible de empeorar con el tiempo". Puede ocurrir a cualquier edad, con mayor severidad a edades más tempranas y para su diagnóstico se requiere demostrar alteración en el desarrollo y la pérdida de habilidades adquiridas, excepto en los pacientes que en su diagnóstico sindromático ya está incluida la palabra encefalopatía (2).

Los siguientes son los síndromes que se consideran encefalopatías epilépticas:

- Encefalopatía mioclónica temprana (Síndrome de Aicardi)
- Encefalopatía epiléptica infantil temprana (Síndrome Ohtahara)
- Epilepsia parcial migratoria de la infancia temprana
- Síndrome de West
- Epilepsia mioclónica severa de la infancia (Síndrome de Dravet)
- Epilepsia astato-mioclónica (Síndrome de Doose)
- Síndrome de Lennox- Gastaut (LGS)
- Síndrome de Landau-Kleffner (LKS)
- Epilepsia con punta onda continúa durante el sueño (ESES)

2.2 Epilepsia e inflamación

En la última década y media se han tenido hallazgos que apoyan la hipótesis de que un proceso inflamatorio está involucrado en algunos desordenes del sistema nervioso central, como las enfermedades neurodegenerativas, autoinmunes, eventos cerebrovasculares y epilepsia. Con la activación de la respuesta inmune innata y adaptativa, jugando un papel preponderante las comunicaciones entre el sistema inmune periférico y el sistema inmune del sistema nervioso central, principalmente por medio de activación de la glía y la subsecuente alteración de la barrera hemato-encefálica (BHE) (13–17,19,25,33,42–45)

En el caso de la respuesta innata, esta se encuentra mediada por citoquinas y mediadores inflamatorios que activan la microglía, macrófagos y principalmente astrocitos;

la respuesta adaptativa ocurre a través de linfocitos y neutrófilos que pasan la barrera hematoencefálica la cual se presenta elteraciones en sus características de impermeabilidad por el proceso inflamatorio e inmune inicial; todo esto favorece la producción de más citoquinas, factores tróficos, moléculas de histocompatibilidad con posterior daño celular, además de permitir el paso de albumina, cómo una factor determinante en el proceso de inducción y perpetuación de la cascada inflamatoria que conlleva a la disminución del disminución del umbral convulsivo (13,15–17,19,41,46)

En epilepsia, la investigación se ha orientado hacia la determinación de mecanismos fisiopatológicos que permitan explicar mejor tanto la generación de crisis, la persistencia y resistencia de las mismas al tratamiento anticonvulsivante instaurado; a través de diferentes modelos de investigación se encontró que la inflamación en sistema nervioso central facilita el establecimiento y la perpetuación de los focos epileptogénicos, basados en los siguientes hallazgos:

1. La liberación de moléculas pro-inflamatorias lleva a la muerte neuronal
2. Sustancias anti-inflamatorias como la IL-1Ra, que tienen mecanismos reguladores que bloquean la acción de la IL-1B han demostrado ser ineficientes en el control de la respuesta inflamatoria a las convulsiones.
3. La activación de los astrocitos, tiene un papel fundamental en el desarrollo y en la cronificación de la inflamación, por diferentes mecanismos (16,42,47)
    a. Proliferación
    b. Activación

c. Cambios de función

   i. Cambios en el flujo de potasio.

   ii. Cambios en la concentración de agua y de disminución del espacio extracelular.

   iii. Regulación de recaptación/degradación de neurotransmisores cómo el glutamato.

   iv. Disminución de la Adenosina extracelular.

   v. Alteración de los podocitos que impermeabilizan la BHE

4. La alteración de la BHE genera paso de moléculas inflamatorias al espacio extracelular del sistema nervioso central activando la glía. Además permite el paso de albúmina que, en modelos animales, induce por si sola eventos convulsivos y que ayuda a la generación de la cascada inflamatoria por medio de la activación de cascadas de señalización en los atrocitos (16,41,42,46,47)
5. Las convulsiones frecuentes y recurrentes generan, propagan y perpetúan las respuestas inflamatorias innatas y adaptativas, aún días después de ocurridas, indicando fallas en el control antiinflamatorio endógeno del sistema nervioso central (14,16,48).
6. En los diferentes modelos experimentales de epilepsia inducida, la inflamación esta sobrerregulada y antecede el inicio de las crisis espontáneas (13).

A nivel molecular el proceso inflamatorio de sistema nervioso esta mediado por moléculas del sistema de complemento las cuales se encargan de la activación de los complejos atacantes de membrana (MAC) que forman poros en las membranas celulares, con posterior lisis de neuronas, microglía, oligodendrocitos y astrocitos (48)

También por interleucinas que interaccionan de manera paracrina y/o endocrina con la glía y que modifican las comunicaciones glioneurales, aumentando el glutamato disponible, promoviendo la transcripción de genes relacionados con los receptores de glutamato y activando los astrocitos, lo cual favorece la excitabilidad neuronal (13,33,40,41,48)

Las interleucinas son proteínas producidas principalmente por leucocitos y astrocitos activados, que tienen función de segundos mensajeros e intervienen en la activación y funcionamiento del sistema inmunitario y en epilepsia están involucradas en (19,27,48):

1. Modulación de corrientes iónicas neuronales y de la glía a través de cambios en los canales voltaje dependientes (sodio, potasio, calcio) generan cambios de potenciación a largo plazo lo que se traduce en plasticidad neuronal y en el caso de epilepsia perpetuación de los focos epileptogénicos.
2. La activación de proteínas G asociadas a canales iónicos que modifica las corrientes de potasio.
3. Incremento en la liberación de neurotransmisores excitatorios y disminución en su recaptación, a través de mecanismos dependientes de calcio.
4. Inhibición de la transmisión de la acción de GABA.
5. Transcripción de genes que aumentan la expresión de receptores AMPA en la membrana sináptica.
6. Incremento del ácido quinolínico, un metabolito neurotóxico que es agonista de los receptores NMDA

A continuación se describen las IL que han sido identificadas en estudios de epilepsia en animales y en humanos:

INTERLEUCINA 1 (IL1)

Es producida en su mayoría en la periferia pero, también en células gliales, normalmente el nivel sérico es bajo pero ante un proceso infeccioso aumenta y así se puede difundir. El receptor de IL1 tipo I (IL- 1R1) se co-localiza con los receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA) en neuronas piramidales hipocampales, modulando la transmisión de glutamato. También aumenta la expresión de receptores α-amino-3-hidroxi-5-metil-4- ácido isoxazol propiónico (AMPA) lo que contribuye a la excitotoxicidad y generación de convulsiones, además en los astrocitos inhibe la recaptación de glutamato e incrementa su liberación, lo que produce un aumento de la actividad excitatoria neuronal y restringe la inhibición mediada por ácido gamma-aminobutírico (GABA) especialmente en las neuronas piramidales del hipocampo en CA3 y también puede estimular la liberación de IL-6 (19,48).

Además incrementa la excitabilidad neuronal al disminuir el umbral para la despolarización por un aumento de la entrada de calcio (Ca^{+2}) a través de los canales de calcio voltaje dependientes; y en los receptores NMDA por fosforilación de subunidades del canal que lleva a un aumento en el influjo de Ca, principalmente en las neuronas piramidales de CA1 en el hipocampo. También actúa a nivel de la glía y en los astrocitos activando la expresión de genes que favorecen la gliosis y modifican la permeabilidad de la barrera hematoencefalica.

En los oligodendrocitos su efecto es protector, favoreciendo la mielinización y reparación. La IL1β también ha demostrado inducir la expresión de HMGB1 (High-mobility group box 1) que juegan un papel importante en la perpetuación de la respuesta inflamatoria en epilepsia. El estudio de Diamond y colaboradores que, incluyó una cohorte de 59 pacientes con traumas craneoencefálicos (TCE) a quienes durante la primera semana del trauma se les realizaron muestras de IL1β tanto en suero cómo en líquido cefalorraquídeo, mostró que en los pacientes que desarrollarían epilepsia post traumática, los valores de IL1β estaban elevados, con respecto a aquellos pacientes con TCE pero sin desarrollo posterior de epilepsia de origen post traumático, de esta manera, mostrando la utilidad de la IL1β cómo un biomarcador que muestra pronóstico en este tipo de pacientes de desarrollar epilepsia post traumática (16, 26, 32, 37, 43). También la IL-1 se ha visto implicada en los procesos de aprendizaje y potenciación a largo plazo (42)

La IL1Ra bloquea el receptor IL1R y evita todos los efectos causados por la activación y acción de la IL1, teniendo así un efecto protector contra la acción de la IL1β (27,33)

INTERELUQUINA 2 (IL2)

Esta molécula interviene en la proliferación, diferenciación y sobrevida de las linfocitos T, B y natural killer (NK), modifica la actividad eléctrica en el cerebro, la protección de las neuronas y la regulación de liberación de neurotransmisores y hormonas, modifica la actividad de neuronas dopaminérgicas e indirectamente la neurotransmisión colinérgica, noradrenérgica, glutamatérgica. Además posee un efecto analgésico por su acción sobre los receptores opioides del cerebro. (28)

Al momento de la activación de la IL-2, se ha evidenciado un cambio en los patrones de activación de las neuronas hipocampales, intentando contrarrestar en parte la respuesta

generada por la IL-1 (25,42) Ha sido encontrada elevada en síndrome de West por investigadores chinos (24).

INTERLEQUINA 6 (IL6)

Induce incrementos en la astrogliosis y disminución en el número de interneuronas inhibitorias, induce la proliferación de astrocitos y la producción del factor de crecimiento nervioso, además estimula la liberación de hormona corticotrópina desde la hipófisis (19,28,43,48).

Existen estudios que muestran que se induce su producción cuando hay alteraciones de la BHE que inducen expresión del Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGFβ) que a su vez aumenta la síntesis de IL-6 en respuesta al insulto inicial y que por si solo el aumento, tanto de la expresión, cómo de la síntesis de la IL-6 modifica la comunicación neuronal, promoviendo la excitación de la misma y por lo tanto puede ser un factor decisivo para el desarrollo de epilepsia (41). En otro estudio se muestran acciones diferentes de la IL-6 que están en relación con su acción sobre los receptores de adenosina que, si se exponen de forma aguda, pueden tener efectos de neuroprotección en situaciones de hipoxia y de inflamación (40).

Se ha encontrado que la IL-6 se encuentra persistentemente elevada en pacientes con déficit cognitivo y encefalopatía epiléptica (25)

INTERLEUCINA 7(IL 7)

Está relacionada con proliferación, sobrevida y diferenciación de células pro-B. Actúa como modulador de la homeostasis y regulador del crecimiento de las células T, intervienen en el mantenimiento de la respuesta inflamatoria y está implicado en procesos autoinmunes (34,35)

INTERLEUCINA 10 (IL 10)

Es un factor antiinflamatorio que actúa como inhibidor de la síntesis de citoquinas y agentes pro-inflamatorios como IFNγ , IL-2, IL-3, TNF-α, factor estimulante de colonias granulocito – macrófago (GM-CSF), reduce la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad II, y moléculas co-estimuladoras e inhibe la expresión de IL12 por parte de lo monocitos.(28)

INTERLEUCINA 17 (IL17)

Tiene una función proinflamatoria, corresponde a la familia de interleucinas 17 (IL17A, IL17C, IL17F, IL17E, IL17B, IL17D) las más estudiadas son la A, involucrada en el desarrollo de alergias, mecanismo autoinmunes y protección contra infecciones, y la F que induce la expresión de IL proinflamatorias así como TNF, IL1β (36,37)

Los receptores de esta molécula se expresan células epiteliales, dendríticas, astrocitos, oligodendrocitos, células endoteliales de la BHE (36,37).

OTRAS MOLÉCULAS

Otras moléculas que han demostrado modificar la actividad eléctrica del cerebro son CXCL12 y CX3CL-1, que tienen acción en los receptores glutamatérgicos, cambios en la actividad dopaminérgica a través de GABA5. CCL2 y CCL3 producidos por astrocitos, microglía perivascular y leucocitos infiltrados, pueden atraer monocitos, células

polimorfonucleares, linfocitos T y células dendríticas especialmente en el hipocampo de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal (38)

De otro lado, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) estimula la producción de IL1, prostaglandinas y oxidantes que promueven el daño celular, además favorece la adhesión de linfocitos al endotelio de la BHE. Junto con la IL-6, estimulan la secreción de hormona corticotropa (CRH), que lleva a secreción de glucocorticoides que tienen efecto sobre las reacciones inmunes e inflamatorias y genera la producción de la proteína C reactiva (28)

Las moléculas que participan en el compormiso de la BHE son el Factor de crecimiento derivado de fibroblastos (FGF) las moléculas de adhesión endoteliales de tipo ICAM y VCAM y las derivadas de las plaquetas PECAM, que generan cambios en la permeabilidad de la BHE permitiendo el paso de moléculas que activarán y generarán inflamación del sistema nervioso central (25)

2.3 Hormona adreno-corticotrópica (ACTH) en epilepsia

La activación de la respuesta neuroendocrina ante un estímulo estresante lleva a la activación de las células del núcleo central de la amígdala, con secreción de hormona liberadora corticotropina (CRH), que lleva a su vez a la expresión de CRH en el núcleo paraventricular del hipotálamo liberándose en el sistema portal hipotálamo –hipofisiario, induciendo la secreción de hormona adreno corticotropa (ACTH) desde la hipófisis y de glucocorticoides por parte de la glándula adrenal, los cuales modulan la expresión y liberación de neurotransmisores así como de CRH. La CRH está involucrada en procesos de muerte neuronal en áreas hipocampales, por aumento de la excitabilidad de las neuronas

límbicas al potenciar la neutroansmisión glutamatérgica y suprimir la hiperpolarización, además en el cerebro inmaduro hay una mayor expresión de receptores de CRH tanto en la amígdala como en el hipocampo favoreciendo su efecto proconvulsivante, que se modula con la maduración, ya que hay una disminución en la expresión de estos receptores (22)

Los mecanismos por los que se consideran los corticoesteriodes y la hormona adrenocorticotropa (ACTH) como anticonvulsivantes incluyen (22,32,44):

1. Inducción de la síntesis de glucocorticoides que interactúan con los receptores de esteroides en el sistema nervioso central e influye en los canales de calcio voltaje dependientes.
2. Estimulación de síntesis de neuro-esteroides en la glía y en neuronas que modulan los receptores de GABA con funciones inhibitorias.
3. Disminución en la liberación de CRH a través de su acción en los receptores de melanocortina en el núcleo central de la amígdala la cual tiene una actividad proconvulsivante en el cerebro inmaduro
4. Inmunomodulación, al disminuir los niveles de IL proinflamatorias que ejercen liberación de CRH o acciones directas que aumenta la respuesta inflamatoria.
5. Acelera la mielinización y formaciones dendríticas lo que hipotéticamente disminuiría la susceptibilidad a crisis principalmente en el caso de espasmos infantiles.
6. Efecto posiblemente neurotransmisor intrinseco o por segundos mensajeros

En modelos experimentales de espasmos infantiles en ratones, se han encontrado otros efectos en el metabolismo y procesos celulares que explicarían su efectividad en el manejo de encefalopatías epilépticas (23):

- Modificación en el citoesqueleto por aumento en la expresión de la tubulina α1, que interviene en el control del crecimiento celular, distribución de las proteínas de membrana, control de tráfico intracelular y motilidad de espinas dendirticas logrando de esta forma mejorar la migración neuronal.
- Modificación sináptica, al inducir aumento en la expresión de la proteína SNPA 25 la cual estimula la liberación del GABA durante el desarrollo y modula canales de calcio voltaje dependientes.
- En el metabolismo energético, a través de la sobreexpresión de MDH-1, que está involucrada en el metabolismo energético mitocondrial y en el desarrollo embrionario.
- Regulación vascular, al estimular la expresión de DDAH-1 la cual se encarga de incrementar niveles de óxido nítrico intravascular, teniendo efecto neuroprotector.
- Aumenta la expresión de enzimas encargadas de la acetilación, que regulan la transcripción, proliferación, apoptosis y diferenciación celular

Con respecto a la experiencia en el manejo de ACTH para el control de encefalopatías epilépticas existen numerosos estudios, como la publicación de Shiihara y cols (45) que tomo 76 pacientes con Síndrome de West y realizó la determinación de moléculas inflamatorias antes y después de 1 mes de tratamiento con ACTH, evidenciando niveles elevados de IL proinflamatorias como IL1β y IL 12, con su posterior descenso de luego del tratamiento asociado también a mejoría en el control de las crisis. En el estudio de Liua (20) se observó

un aumento en los valores de IL2 en pacientes con encefalopatías epilépticas entre los que estaban pacientes con Síndrome de West.

El objetivo del estudio de Yamanaka (32) consistió en evaluar si la actividad proconvulsiva de la IL-1β y anticonvulsiva del antagonista del receptor de IL1, (IL-1Ra) proporciona una base para determinar la efectividad del tratamiento en pacientes con Síndrome de West, encontrando un aumento en la IL1 Ra en el grupo que respondió adecuadamente al manejo con ACTH logrando control de crisis y por ende de la encefalopatía.

El ACTH es un medicamento con varios efectos adversos, que hacen que el proceso de selección de pacientes y su seguimiento sea cuidadoso y estricto para reducir el riesgo de presentarlos. Entre los efectos adversos más frecuentes están: inmunosupresión, hipertensión arterial, alteraciones electrolíticas principalmente hipocalemia e hipernatremia, aunque cualquier electrolito puede estar comprometido, miocardiopatía hipertrófica, vértigo, cefalea, cambios de comportamiento cómo euforia, úlcera péptica con perforación y hemorragia, reacciones alérgicas, glaucoma, inducción del síndrome de Cushing, miopatía inducida por corticoides, hiperpigmentación de la piel y faneras, amenorrea e hipertricosis.

Con estos resultados se espera tener una herramienta paraclínica para determinar qué pacientes pueden o no beneficiarse de la terapia con ACTH; también se espera conocer mejor

los mecanismos fisiopatológicos asociados a las encefalopatías epilépticas, y el mecanismo por el cual puede considerarse al ACTH como un anti epiléptico. Se espera poder ofrecer a los pacientes con encefalopatías epilépticas opción una terapéutica más temprana y más específica, que lleve a mejorar su pronóstico y a predecir la respuesta al mismo.

3. Métodos

3.1 Objetivo general

Caracterizar los pacientes con diagnóstico de encefalopatía epiléptica y los valores de las interleucinas IL 1β, IL 1 Ra, IL2, IL6, IL7, IL10, IL12, IL 17, pre y tras tres meses de tratamiento con ACTH, evaluados en la Fundación Liga Central Contra la Epilepsia, entre 2013 y 2015.

3. 2 Objetivos específicos

1. Identificar las características de los pacientes con diagnóstico de encefalopatía epilépticas candidatos al uso de Hormona Adrenocorticotrópica (ACTH)
2. Caracterizar la expresión de IL 1β, IL 1 Ra, IL2, IL6, IL7, IL10, IL12, IL 17 en pacientes con encefalopatía epiléptica.
3. Evaluar la modificación de los factores inflamatorios en niños que presentan encefalopatía epiléptica y que son tratados con ACTH
4. Relacionar la modificación de las IL proinflamatorias (1β, IL2, IL7, IL12, IL 17) y antiinflamatorias (IL 1 Ra, IL6, IL10), con la respuesta clínica en términos de control de crisis y modificación del neurodesarrollo.

3.3 Diseño del estudio

Estudio analítico de cohorte

3.4 Población a estudio

Pacientes evaluados, tratados y seguidos en la Liga Central Contra La Epilepsia entre los años 2013 y 2015, con edades comprendidas entre 0 y 18 años

Casos: Pacientes con encefalopatía epiléptica, que requieran y acepten el tratamiento con ACTH como parte de su esquema terapéutico para su epilepsia, durante los años 2013 y 2015.

3.5 Tamaño de la muestra

Muestra por conveniencia. Se seleccionarán mínimo 10 pacientes que ingresen al protocolo con ACTH.

3.6 Criterios de inclusión

1. Pacientes con diagnóstico de Encefalopatía epiléptica según los criterios de la ILAE, que vayan a recibir tratamiento con ACTH entre 2013- 2015
2. Pacientes con encefalopatía epiléptica, con falla terapéutica al tratamiento farmacológico convencional.
3. Tener estudio de electroencefalograma y de resonancia magnética cerebral previo al inicio de la terapia con ACTH.
4. Cumplir con el protocolo de ACTH de la Liga Central contra la Epilepsia.
5. Tener los siguientes estudios normales:
    - Infecciones Crónicas: IgM para CMV, EBV, HSV 1-2, Toxoplasma, Rubéola, ELISA para VIH 1 y 2, VDRL cuantitativa
    - Rayos X de tórax.
    - Cortisol basal sérico y en orina de 24 horas
    - Electrolitos: Potasio, Cloro, Calcio, Sodio.
    - Función hepática y renal
    - Perfil tiroideo
    - Uroanálisis
    - Cuadro hemático

6. Firmar consentimiento informado para el uso de ACTH
7. Firmar consentimiento informado para el presente estudio

3.7 Criterios de exclusión

1. Contraindicaciones para el uso de ACTH:
    - Hipersensibilidad conocida al Hexa-acetato de tetracosactida o a la ACTH o a alguno de sus excipientes.
    - Recién nacidos y bebés prematuros, debido a la presencia de alcohol bencílico.
    - Psicosis aguda.
    - Enfermedades infecciosas.
    - Úlcera gastro-duodenal.
    - Insuficiencia cardíaca refractaria.
    - Síndrome de Cushing.
    - Insuficiencia cortico-suprarrenal primaria.
    - Síndrome genito-suprarrenal
    - Embarazo y lactancia
2. Rechazo por parte de los cuidadores y padres a participar en el estudio
3. Tener cualquier tipo de inmunosupresión o enfermedad autoinmune, diagnosticada por Hematología y/o Reumatología.

3.8 Participación en el proyecto

Solicitud de aprobación y firma del consentimiento informado a los padres y/o acudientes de pacientes con encefalopatía epiléptica candidatos a tratamiento con ACTH de

acuerdo a los criterios de inclusión y criterios de exclusión; se les explicó el estudio (objetivos, métodos, riesgo para el paciente, libertad de elección a participar) y se les invita a participar en el mismo.

3.9 Toma de muestra

Se tomó una muestra de sangre periférica por venopunción con aguja hipodérmica (10 cc), en un tubo seco, previa firma del consentimiento informado por parte del responsable del menor y asentimiento del paciente, según el caso lo permita. La primera muestra se toma el mismo día de inicio del esquema terapéutico, antes de la aplicación de la primera dosis de ACTH.

Se dejó que la sangre coagulase a temperatura ambiente por un lapso de 10 minutos y se centrifugó a 2000 rpm por 10 minutos, para la extracción del suero por medio de pipetas, se almacenó en tubo de 2 cc de plástico y este se conservó a -80 grados Celsius, en las neveras del laboratorio de investigación a cargo del Dr. Jorge Caminos, en la facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

3.10 Procesamiento de la muestra

Se evaluaron los niveles de expresión de 25 citoquinas mediante el sistema LúmineX 100 (Luminex Corp., Austin, TX) en suero de 10 pacientes con encefalopatía epiléptica refractaria.

El panel incluyó las citoquinas : (IL)-1RA·, -1ß, -2, , -6, -7, -10, -12, -17.

según el protocolo del manufacturante (Invitrogen®), las muestras se mezclaron en una relación 1:2 (25 µl of diluyente + 25 µl de muestra). Posteriormente se adicionaron las perlas acopladas a las diferentes citoquinas y se incubaron en agitación por 1 hora. Se realizaron lavados de los pozos y se adicionaron 25 µl de anticuerpo de detección por 30 minutos. Cumplido este tiempo se realizaron dos lavados y se adicionó el complejo Streptavidina-Ficoeritrina por 30 min. Finalmente la concentración de cada citoquina en las muestras fue detectada en el equipo Lúminex 100 teniendo en cuenta la media de la intensidad de la fluorescencia (MFI). Los valores obtenidos se convirtieron a unidades pg/mL basado en la curva estándar de cada proteína.

3.11 Instituciones involucradas

El estudio se realizó en la Fundación Liga Central Contra la Epilepsia y en las instalaciones de la Universidad Nacional de Colombia.

3.12 Aspectos Éticos

Este trabajo se llevó a cabo, teniendo en cuenta las normas internacionales de investigación con seres humanos, como el Código Nuremberg, la declaración Helsinki y el informe Belmont. De acuerdo con la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, se considera que este estudio es una investigación con riesgo mínimo.

Previo a todos los procedimientos y entrevistas realizadas, se informó a los padres de los pacientes acerca de la calidad y los objetivos del estudio, de las ventajas y desventajas de su participación en éste, sus derechos, junto con la información acerca del manejo de la

muestra de sangre y la confidencialidad de los datos. No se contó con el asentimiento informado de los pacientes ya que todos los pacientes incluídos en este estudio tienen discapacidad cognitiva en grados variables.

Después de la información clara a los padres/acudientes por parte del investigador, se solicitará la respectiva autorización a pertenecer al estudio por medio de la firma de un consentimiento informado donde conste la información antes descrita.

La información fue manejada de forma confidencial.

El comité de ética de la Universidad Nacional de Colombia en el acta No. 020-223-15 y de la misma manera el comité de ética de la Liga Central Contra la Epilepsia (LICCE) aprobaron el protocolo y su ejecución.

En el anexo No. 1 se encuentra el consentimiento informado para los pacientes caso. En el anexo 2. Está el protocolo de tratamiento para epilepsias refractarias con ACTH de la Liga Central Contra la Epilepsia. El anexo 3. Corresponde a la aprobación del comité de ética de la Universidad Nacional de Colombia.

3.13 Presupuesto

KIT Medición interleucinas LUMINEX	$ 11.760.000
Procesamiento de muestras	$ 2.000.000
Estadístico para análisis de resultados	$ 500.000
Psicóloga para evaluación pacientes	$ 1.000.000
Traducción artículos para publicación	$ 1.000.000
Insumos para procesamiento de muestras	$ 100.000
Papelería	$ 400.000
Transportes	$ 500.000
Reserva para pago de publicación	$ 2.500.000

TOTAL	$ 19. 760.000

El presente estudio fue financiado por la División de Investigaciones Sede Bogotá (DIB) y la Vicedecanatura de Investigaciones de la Facultad de Medicina, ambas de la Universidad Nacional de Colombia, con códigos HERMES 22277 (Código QUIPU 201010021707) y Código HERMES 28527 (Código QUIPU 201010023570)

4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de cada una de las interleucinas evaluadas, en las que tuvieron distribución normal se realizaron medidas de mediana, en las que tuvieron distribución no normal, se realizó el cálculo de los rangos intercuartílicos.

En las variables con distribución normal se realizaron pruebas de T de student y en las no normales, se realizó test de Wilcoxon para determinar los p-valores.

4.1 Resultados

La edad promedio de los pacientes fue de 10 años, 60% fueron varones, en el 70% su núcleo familiar estaba compuesto por padre y madre, en el 30% estaban a cargo de madres cabeza de hogar, la mitad de los pacientes tenían antecedentes familiares de epilepsia, Los valores promedio antes del inicio del ACTH fueron: Glucemia 85,81 mg/dl, sodio 140.78 mEq/l, potasio 3,9 meq/l, Cortisol 10,52. (Tabla 1)

Tabla No 1 Información demográfica		
Edad	4 años – 14 años	9 años
Síndrome epiléptico	Sd. Lennox – Gastaut	40%
	Epilepsia Focal Sintomática	30%
	Sd. Doose	20%
	Landau-Kleffner	10%
Tipos de crisis	Atonías	60%
	Tónicas	60%
	Mioclonías	30%
	Focales motoras complejas	30%
	Ausencias Atípicas	30%
	Focales motoras simples	10%
Etiología	Probablemente sintomático	50%
	Encefalopatía hipoxico-isquémica del recién nacido	30%
	Trastorno del desarrollo cortical	20%
Antecedentes familiares de epilepsia	Si	50%
	No	50%
Fármacos Anticonvulsivantes	Pre-ACTH	3,7
	Post-ACTH	3,9

Tabla No 1 Información demográfica		
# Crisis/día Pre – ACTH	0,4 – 50	15,64
# Crisis/día Post – ACTH	0 – 7,5	2,19

El 40% de los pacientes tienen síndrome de Lennox-Gastaut, 30% epilepsia focal sintomática, 20% síndrome de Doose y 10% síndrome de Landau-Kleffner. El tipo de convulsión más frecuentemente encontrado fueron las de tipo atónico en el 60% de los pacientes al igual que las tónicas, seguido de focales motoras complejas y ausencias atípicas en el 30% de los pacientes, finalmente 10% de los pacientes presentaron crisis focales motoras simples.

En cuanto al control de crisis, el promedio total del control de crisis en éste grupo fue de 68,4%. En el caso del grupo de síndrome de Lennox-Gastaut fue de 78,5%, en el grupo de epilepsia focal sintomática fue de 56,6%, en el síndrome de Doose 100% y en el síndrome de Landau-Kleffner fue de 0%. El promedio de los fármacos anticonvulsivantes utilizados antes del inicio del ACTH fue de 3,7 y posterior al ciclo de 3 meses de ACTH fue de 3,9 por cada paciente. (Tabla 2) En la tabla 3. Se resumen los datos de cada interleucina de cada paciente, en la que los resultados muestran disminución en los niveles posterior a tres meses de tratamiento con ACTH de IL-1RA, IL-10 sin que tuvieran significancia estadística, aumento de IL-1β, IL-2, IL-7 e IL-12 sin significancia estadística, la IL-17 no se modificó en el estudio y se registró un aumento de la IL-6 posterior a tres meses de tratamiento con ACTH y logra una significancia estadística.

Tabla No 2 Caracterización de epilepsia de la población analizada							
	Síndrome epiléptico	Tratamiento Pre-ACTH	Tratamiento Post-ACTH	Tipo de crisis	#Crisis/día Pre- ACTH	#Crisis/Dìa Post-ACTH	% Control de crisis
1	Lennox-Gastaut	VPA, CLZ, CLB,	VPA, CLZ, CLB	Atonías, Focales motoras simples	50	4	86%
2	Lennox-Gastaut	CLB, TPM, LEV	CLB, TPM, LEV, CLZ	Atónicas, tónicas, Ausencias atípicas	10	4	60%
3	Lennox-Gastaut	CLB, TPM, LEV, CLZ	CLB, LTG, TPM	Focales motoras complejas, Tónicas, Ausencias Atípicas	50	7,5	88%
4	Lennox-Gastaut	CBZ, CLZ, LTG, TPM, LEV	CLB, CLZ, LTG, LEV, LCS	Mioclonías, Ausencias atípicas, Tónicas, Atónicas	10	2	80%
5	Epilepsia focal probablemente sintomática	LEV, CBZ	CBZ, CLZ, LEV	Focales motoras complejas	10	0	70%
6	Epilepsia focal probablemente sintomática	CBZ, CLZ, PB, VPA	CBZ, CLZ	Mioclonías, Tónicas, Atónicas	10	0	100%

7	Epilepsia focal probablemente sintomática	OCZ, VGB, TPM, LEV	TPM, VGB, LCS, LEV	Atónicas, Tónicas	0,4	0,4	0
8	Doose	LTG, TPM, LEV	CLZ, CLB, LTG, LEV		10	0	100%
9	Doose	LTG, VPA, LEV	CLB, VPA, LTG	Atónicas, Tónicas, Mioclonías	5	0	100%
10	Landau-Kleffner	VPA, CLZ	LEV, CLB	Focales motoras complejas	1	1	0%

Tabla 3. Valores de IL por cada paciente

IL 1β, pre	IL 1β, post	IL1Ra pre	IL1Ra post	IL2 Pre	IL2 Post	IL6 pre	IL6 post	IL7 pre	IL7 post	IL10 pre	IL10 post	IL12 pre	IL12 post	IL 17 pre	IL 17 post
0,002	0,003	0,021	0,0315	0,002	0,002	0,00175	0,001	0,001	0,012	0,001	0,00175	0,02875	0,00875	0,026	0,026
0,00225	0,00375	0,052	0,0235	0,003	0,00225	0,00175	0,002	0,0055	0,00675	0,00125	0,0015	0,0425	0,0095	0,026	0,026
0,01	0,01	0,05675	0,067	0,002	0,002	0,001	0,002	0,00675	0,00325	0,0015	0,001	0,024	0,00675	0,026	0,026
0,0075	0,01	0,0195	0,038	0,00225	0,002	0,001	0,002	0,007	0,0095	0,24225	0,00125	0,0325	0,00925	0,026	0,026
0,01	0,00575	0,06125	0,041	0,002	0,002	0,001	0,001	0,012	0,0095	0,001	0,00075	0,03275	0,01	0,026	0,026
0,003	0,00225	0,142	0,01675	0,002	0,0025	0,002	0,002	0,012	0,0065	0,001	0,001	0,078	0,01575	0,026	0,026
0,00775	0,00525	0,02825	0,06825	0,002	0,002	0,0015	0,00175	0,00825	0,012	0,00125	0,001	0,0285	0,00975	0,026	0,026
0,00575	0,0055	0,054	0,0725	0,00225	0,002	0,00175	0,00175	0,0085	0,012	0,001	0,001	0,02825	0,0195	0,026	0,026
0,01	0,01	0,02125	0,0365	0,002	0,002	0,001	0,002	0,0085	0,0055	0,001	0,00175	0,036	0,00975	0,026	0,026
0,0031667	0,0085	0,0235	0,0685	0,00233	0,00325	0,002167	0,0035	0,0075	0,0125	0,00167	0,0035	0,021167	0,03425	0,026	0,026

En términos de neurodesarrollo se realizaron valoraciones a tres pacientes por medio de la escala de Griffiths, que involucra seis dominios: Motor, audición-lenguaje, coordinación óculo-manual, social, ejecución y razonamiento. El paciente con síndrome de Landau-Kleffner que presentó mejorías en los seis dominios y al final de los tres meses se registró una mejoría del neurodesarrollo de 17 meses con respecto a su evaluación inicial. El paciente con síndrome de Doose, presentó mejorías en los componentes de audición y lenguaje, coordinación óculo-manual, ejecución y razonamiento, lo que representó una mejoría del neurodesarrollo de 6 meses con respecto a su evaluación inicial. El paciente con epilepsia focal probablemente sintomática por el contrario presentó regresión en el neurodesarrollo con respecto su evaluación inicial, posiblemente en relación con progresión de su encefalopatía. (Tabla 4)

Tabla No 4 Escala de Neurodesarrollo

Edad		Motora		Personal - Social		Audición - Lenguaje		Coordinación Óculo-manual		Ejecución		Razonamiento		TOTAL
		P	Meses	P	Meses	P	Meses	P	Meses	P	Meses	P	Meses	
1	98 meses	61	50	62	52	61	50	65	58	61	50	61	50	55
	102 meses	70	72	72	81	70	81	70	66	61	50	76	80	72
2	62 meses	51	30	55	38	63	54	55	36	54	36	55	38	38
	65 meses	51	30	52	32	65	58	63	54	58	44	59	46	44
3	49 meses	43	24	43	24	43	22	47	24	41	21	49	21	22
	54 meses	24	12	25	14	20	12	22	11	23	11	No se aplica		12

En los demás siete pacientes, si bien no hubo una medición objetiva del neurodesarrollo, los cuidadores refirieron que los pacientes tuvieron mejorías significativas en términos de contacto e interacción con el medio, mejorías en destrezas comunicativas, ya

sea intención comunicativa e incluso el desarrollo o mejoría del lenguaje verbal, así como de ejecución de actividades de la vida diaria, cómo la alimentación.

Los valores de las IL evaluadas se encuentran en la tabla 5. Los valores de L-1β, IL-1Ra, IL-2, IL7, IL-10, IL-12 e IL-17 no presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los valores obtenidos antes y después de tres meses del tratamiento con ACTH. Sin embargo, la IL-6 si mostró una variación estadísticamente significativa (p = 0.03665579398) cuando se calculó la diferencia entre los valores previos y los posteriores al tratamiento con ACTH.

Tabla No 5. Valores Promedios de IL Totales

	Media pre	Media post	Distribución Normal	Desviaciones Estándar pre	Desviaciones Estándar post	Rango Intercuartílico Pre	Rango Intercuartílico Post	P-Value
IL-1β	0.006141666667	0.0064	Si	0.003337740143	0.003012012985	-	-	0.4289327634
IL-1 RA	0.04795	0.04635	No	-	-	0.34765625 (25 th) - 0.05606 (75 th)	0.03275 (25 th) - 0.06794 (75 th)	0.34765625
IL-2	0.002183333333	0.0022	No	-	-	0.002 (25 th) - 0.00225 (75 th)	0.002 (25 th) - 0.002188 (75th)	0.5
IL-6	0.001491666667	0.0019	Si	0.0004571955575	0.0006892024376	-	-	0.03665579398
IL-7	0.0077	0.00895	Si	0.003271934528	0.1980613307	-	-	0.1980613307
IL-10	0.02529	0.00145	No	-	-	0.001(25th) -	0.001 (25 th) -	0.4163106014

	166667					0.001438 (75 th)	0.001688	
IL-12	0.005773061092	0.013325	No	-	-	0.02831 (25th) - 0.03519 (75th)	0.009312 (25 th) - 0.01431 (75 th)	0.998046875

Los valores promedio pre tratamiento y post tratamiento están enlistadas en la tabla 6 agrupadas por tipo de síndrome epiléptico.

Tabla No 6 Valores de IL agrupadas por Síndrome				
	Síndrome de Lennox-Gastaut	Epilepsia focal sintomática	Síndrome de Doose	Síndrome de Landau-Kleffner
IL 1β, pre	0.0054375	0.006916666667	0.007875	0.003166666667
IL 1β, post	0.0066875	0.004416666667	0.00775	0.0085
IL 1 Ra pre	0.0373125	0.07716666667	0.037625	0.0235
IL 1 Ra post	0.04	0.042	0.0545	0.0685
IL2 pre	0.0023125	0.002	0.002125	0.002333333333
IL2 post	0.0020625	0.002166666667	0.002	0.00325
IL6 pre	0.001375	0.0015	0.001375	0.002166666667
IL6 post	0.00175	0.001583333333	0.001875	0.0035
IL7 pre	0.0050625	0.01075	0.0085	0.0075
IL7 post	0.007875	0.009333333333	0.00875	0.0125
IL10 pre	0.0615	0.001083333333	0.001	0.001666666667
IL10 post	0.001375	0.0009166666667	0.001375	0.0035
IL12 pre	0.0319375	0.04641666667	0.032125	0.02116666667
IL12 post	0.0085625	0.026	0.014625	0.03425
IL 17 pre	0.026	0.026	0.026	0.026
IL 17 post	0.026	0.026	0.026	0.026

5. Discusión

El término de encefalopatía epiléptica, recientemente replanteado por Howell, se refiere a la disrupción del neurodesarrollo, causado por la actividad epiléptica interictal en los pacientes con epilepsia, más que referirse a un grado mayor de gravedad de la epilepsia o de la enfermedad que causa epilepsia (1) .

En cuanto a los mecanismos de epileptogénesis se han propuesto múltiples alteraciones que llevan a la formación del foco epiléptico y su perpetuación en el tiempo, todos los mecanismos propuesstos se articulan de forma complementaria, sin que hasta la fecha haya un mecanismo único (2). La importancia de discutir los diferentes mecanismos de epileptogénesis se basa en que la terapia inmunomoduladora puede ejercer efectos sobre múltiples elementos involucrados en los mecanismos de epileptogénesis, no solamente modular la respuesta inflamatoria a nivel del sistema nervioso central sino modificar las alteraciones en las comunicaciones inter e intra-neuronales, la participación de algunos canales mediados por recpetores también involucran los diferentes mecanismos de acción del ACTH (3–7).

Dentro de estos mecanismos se encuentran las alteraciones de vías moleculares pueden estar relacionadas con la formación de focos epileptogénicos, a través de la poda de las conexiones neuronales y las vías de muerte celular. Las dos vías más importantes y más estudiadas son la mTOR (Blanco mamífero para la Rapamicina por sus siglas en inglés) que regula, entre otras muchas funciones, la plasticidad neuronal, la estructura neuronal y la expresión de varios canales iónicos responsables de la transmisión sináptica de las neuronas. Y la vía del REST-1 (Factor de transcripción del represor del silenciador del elemento 1) que genera inhibición de la expresión génica de múltiples genes neuronales, dentro de los que se encuentran los genes que modulan la excitabilidad neuronal (2).

Las alteraciones de la barrera hematoencefálica (BHE) juegan un papel fundamental en el desarrollo de los diferentes mecanismos de epileptogénesis y se postula, cómo un primer paso decisivo para el inicio de la cascada inflamatoria dentro del sistema nerviosos central y se plantea cómo un paso común para diferentes agresiones que lleven a la formación de un foco epileptogénico (8) Al presentarse ésta ruptura de la BHE, la albúmina pasa al espacio extracelular, generando cambios en los mecanismos de comunicación entre las neuronas y la glía, posiblemente en relación con su acción sobre el Receptor 2 del Factor Transformante Beta (TGFβR-2 por sus siglas en inglés), que genera modificaciones en las funciones del astrocito, dentro de las que se encuentran la producción de citocinas inflamatorias, favoreciendo de ésta manera la presencia de inflamación como uno de los posibles mecanismos de epileptogénesis (8). El Factor Transformante β-1 (TGFβ-1 por sus siglas en inglés) que aumenta la producción de IL-6 a través de cascadas intracelulares al lesionarse la BHE, produce una regulación rápidamente hacia la alta, de forma exclusiva en los astrocitos, (9). La producción rápida de IL-6 mediada por el TGFβ-1, genera un aumento de la excitabilidad neuronal medida in vivo y ex vivo, demostrada por aumento de la hiperexcitabilidad neuronal en modelos de estimulación eléctrica, ha demostrado ser en modelos animales un mecanismo que lleva al desarrollo de crisis epilépticas al largo plazo (9).

Otro estudio mostró que los cambios epigenéticos relacionados con epilepsia y enfermedades que cursan con epilepsia, muestran de forma consistente alteraciones en la metilación, en la expresión o represión de genes que pueden contribuir a los mecanismos de epileptogénesis mediados por la inflamación, haciendo regulación a la alta de genes que codifican para moléculas pro o anti-inflamatorias, entre otras muchas funciones (10).

Éste último mecanismo abre paso al modelo más ampliamente estudiado en términos de epileptogénesis, que es el modelo inflamatorio, éste modelo incluye mecanismos de señalización celular, expresión génica y la producción subsecuente de moléculas inflamatorias en el sistema nervioso central, que actúan cómo mediadoras, potenciadoras y perpetuadoras de la actividad hiperexcitable neuronal (11,12,5,4,3).

Usualmente la expresión constitutiva de interleucinas dentro del sistema nervioso central es baja, pero aumenta significativamente cuando se expone a agresiones cómo infecciones o lesiones y es producida principalmente por los astrocitos (13).

Se considera que la Interleuquina – 6 (IL-6) puede tener dos funciones diametralmente opuestas, una relacionada con neuroprotección dependiente de expresión aguda y otra dependiente de expresión o exposición crónica a IL-6 que ha sido relacionada con muerte neuronal y neurodegeneración. Sin embargo se desconocen los mecanismos por los cuales la exposición a IL-6 puede ser protectora o lesiva para la población neuronal in vivo, llevando a enfermedades neurológicas como la epilepsia (13).

Nuestros resultados muestran disminución en los niveles posterior a tres meses de tratamiento con ACTH de IL-1RA, IL-10 sin que tuvieran significancia estadística, aumento de IL-1β, IL-2, IL-7 e IL-12 sin significancia estadística, la IL-17 no se modificó en el estudio y se registró un aumento de la IL-6 posterior a tres meses de tratamiento con ACTH con una significancia estadística de $p=0.03$, por lo que planteamos que el experimento realizado por Biber y colaboradores, en el que el aumento de la expresión, o la exposición aguda a IL-6, afecta directamente la expresión y la acción del receptor de adenosina A1, que conlleva a inhibición de la liberación de glutamato en la terminal pre-sináptica, además disminuye las corrientes mediadas por N-Metil-D-Aspartato (NMDA) (13) Además, podría favorecer el control de crisis y la disminución de la actividad epileptogénica por su acción aguda

relacionada con mecanismos de neuroprotección. Sin embargo, existen algunos estudios en humanos que muestran que los niveles séricos de IL-6 están elevados en pacientes con convulsiones recientes, medidas durante un estudio de video-electroencefalografía (14) y en pacientes con epilepsia y discapacidad cognitiva comparados con población sin epilepsia ni discapacidad cognitiva (15).

De la misma manera, pero en modelos animales, la ruptura de la BHE y su subsecuente paso de albúmina, modifican a la alta la expresión de TGFβ-1, que tiene acción sobre los receptores de TGF, que a su vez aumenta la producción de IL-6 dentro del sistema nervioso central y que esta producción de IL-6 está directamente relacionada con el desarrollo de epilepsia en los modelos animales y en los tejidos expuestos a estos cambios (9).

Por lo anterior consideramos que la presencia de niveles séricos detectables de IL-6 están en relación con la presencia de epilepsia activa en los pacientes evaluados y que el aumento de las concentraciones séricas posterior a la administración del ACTH, según el protocolo de la Liga Central Contra la Epilepsia, podría estar en relación con el control de las crisis y la mejoría del cuadro, basados en los hallazgos del experimento de Biber, en el que la exposición aguda, aumenta la expresión y la respuesta neuroprotectora medidada a través del bloqueo de la acción de neurotransmisores excitadores (13). Además hasta el momento no existen estudios que evalúen los niveles de IL-6 basales ni post tratamiento con inmunomoduladores en pacientes con encefalopatía epiléptica, lo que podría modificar de alguna manera las concentraciones de éstas citosinas anti y proinflamatorias.

Otro de los hallazgos más importantes es la mejoría en el neurodesarrollo, en todos los pacientes evaluados, esto podría ser uno de los hallazgos más importantes en nuestro estudio, ya que existe evidencia que en los síndromes evaluados (Síndrome de Lennox – Gastaut, Síndrome de Doose y Síndrome de Landau-Kleffner), el pronóstico cognitivo es ominoso y depende de la rapidez del inicio de la terapia iniciada, el rápido control de convulsiones,

específicamente en el caso del síndrome de Doose y del síndrome de Landau-Kleffner (16,17) sin embargo, a pesar que nuestros pacientes tuvieron mejorías importantes en el neurodesarrollo, no tuvieron control de convulsiones ni de actividad epileptiforme en el EEG de forma rápida, así como tampoco se inició de forma rápida o prioritaria el tratamiento con ACTH, lo que plantea la terapia con ACTH como una alternativa que se puede utilizar en pacientes con epilepsias refractarias de larga data, en los que los tratamientos farmacológicos clásicos han fallado, mostrando tasas de control de convulsiones totales mayores a al 67% en nuestra serie, elemento que no se había logrado con ningún otro fármaco anti-epiléptico utilizado y que además mejora significativamente el neurodesarrollo y por ende la calidad de vida de los pacientes involucrados y sus familias.

6. Conclusiones

- Las características clínicas de los pacientes candidatos a tratamiento con ACTH que tienen encefalopatía epiléptica son variables, en general, cualquier paciente que sea refractario al tratamiento farmacológico convencional, que no tenga ninguna contraindicación al tratamiento inmunomodulador puede recibirlo y favorecerse del control y mejoría de encefalopatía y del número de convulsiones.
- No se encontraron diferencias en los niveles de las interleucinas IL 1β, IL 1 Ra, IL2, IL7, IL10, IL12, IL 17 medidas antes y después del tratramiento con ACTH en pacientes con encefalopatía epiléptica, pero se encontró un aumento significativo de los niveles de IL 6 en los pacientes pos tratamiento.
- Estos pacientes si mostraron mejoría en cuanto a la disminución en la frecuencia de crisis y en avances en procesos cognitivos, sin embargo en comparación con las variaciones de las interleucinas y el control de crisis o las mejorías del desarrollo las diferencias no tuvieron una significancia estadística, pero muestra una tendencia a relacionar el aumento de los niveles de IL 6 con la mejoría de los pacientes con encefalopatía epiléptica.

7. Conflicto de intereses

Los autores y coautores del proyecto no han recibido ningún patrocinio o apoyo económico por parte del laboratorio Novartis, fabricante del ACTH utilizado en el protocolo que corresponde al ACTH sintético (Synacthen).

Anexo 1. Consentimiento informado Paciente Caso

CONSENTIMIENTO INFORMADO A PADRES

Evaluación de niveles de interleucinas en niños con encefalopatía epiléptica candidatos al uso de hormona adrenocorticotropa (ACTH), diagnosticados en la Liga Central Contra la Epilepsia entre los años 2013 y 2016.

El objetivo de este documento es invitar a su hijo(a) y /o representado(a) a participar en este proyecto de investigación. El trabajo consiste en hacer una medición de las sustancias inflamatorias involucradas en la generación y persistencia de las crisis en pacientes con encefalopatía epiléptica; con este trabajo se aportará al conocimiento sobre el mecanismo por el cual el ACTH mejora las crisis epilépticas y esto se utilizará con los pacientes en un futuro para apoyar la decisión de iniciar terapias adicionales para la epilepsia de una forma temprana y para predecir la respuesta terapéutica de los pacientes a este tratamiento.

En esta investigación se hará revisión de los datos aportados en la historia clínica y exámenes paraclínicos en cada paciente, realización de examen físico y toma de muestras de sangre por personal especializado antes del inicio de tratamiento con ACTH, a los 3 meses y al final del tratamiento. Los riesgos de la toma de la muestra de sangre que son: punción inicial fallida, requerir nueva punción, hematoma en sitio de punción. Se garantizarán todas las medidas necesarias para reducir al mínimo estos eventos. Los datos de identificación y la información de cada paciente serán confidenciales y solo tendrá acceso a estos el medico investigador, así como tampoco será revelada en publicaciones de carácter científico. La participación en este estudio es de libre elección; no tendrá implicaciones en el tratamiento de su hijo, ni habrá sanciones o pérdidas de beneficios si no desea tomar parte del mismo y podrá retirarse en cualquier momento del estudio.

En caso de dudas o preguntas, las personas encargadas de brindar información son la Dra. Diana Benítez, Dra. Angélica Uscategui o el Dr. Sebastian Ortiz al teléfono _____.

Se entregará una copia de este consentimiento para su archivo personal.

Después de lo anterior acepto de manera voluntaria que mi hijo(a) y/ó representado(a) participe en este estudio. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y siento que todas mis inquietudes al respecto han sido resueltas. Entiendo que no tiene costo y no hay retribuciones directas, podré saber los resultados al final del estudio.

Fecha y Lugar: _____

Padres el paciente o sus cuidadores: _____

Firma y Cedula: _____

Nombre del paciente: _____

Nombre y firma de un testigo: _____

Nombre y firma del Médico:_____

Anexo 2. Protocolo de aplicación de ACTH Liga Central Contra la Epilepsia

Los pacientes con diagnóstico de encefalopatía epiléptica, con fallas terapéuticas al tratamiento farmacológico convencional, pueden ser candidatos al uso de hormona adrenocorticotropa.

Para el esquema del tratamiento propuesto se utilizara la presentación de hormona adrenocorticotrópica sintética de depósito: Hexaacetato de Tetracosactide (Synacten depot®) ampolla de 1mg = 1 cc = 100 UI.

Antes de iniciar el tratamiento los pacientes deben tener los siguientes estudios con el fin de descartar contraindicaciones:

- Estudios de infecciones crónicas: IgM para CMV, EBV, HSV 1-2, Toxoplasma, Rubéola, ELISA para VIH 1 y 2, VDRL cuantitativa
- Rayos X de tórax.
- Cortisol basal sérico y en orina de 24 horas
- Electrolitos: Potasio, Cloro, Calcio, Sodio.
- Función hepática y renal
- Perfil tiroideo
- Uroanálisis
- Cuadro hemático
- Electroencefalograma.

Una vez descartadas las contraindicaciones metabólicas e infecciosas, se procede a la aceptación de los padres y firma del consentimiento informado.

El esquema de tratamiento es el siguiente:

Esquema de aplicación del ACTH – Liga Central Contra la Epilepsia

Fase	Unidades KG/DÍA	Intervalo de aplicación	Tiempo	Vigilar
I	5	Diaria/interdiaria	1 a 4 semanas	• Infección, HTA, alteración electrolítica • Paraclínicos: Electrolitos, cortisol basal, Hemograma, glicemia, Uroanalisis, Función hepática y renal cada 15 días. Al final de la fase se tomará EEG.
II	4	2/ semana	2 – 4 semanas	• infección HTA, alteración electrolítica • Paraclínicos: cada 15 días tomar electrolitos, cortisol basal, glicemia, hemograma, función hepática renal y tiroidea, Uroanálisis. Al final de la fase EEG
III	3	2 / semana	2 – 3 meses	• infección HTA alteración electrolítica • Paraclínicos: Electrolitos, cortisol basal, Hemograma, glicemia, Uroanalisis, Función hepática y renal y EEG cada mes.
IV	2	1/ Semana	2 – 3 meses	• infección HTA alteración electrolítica • Paraclínicos: Electrolitos, cortisol basal, Hemograma, glicemia, Uroanalisis, Función hepática y renal y EEG cada mes.
V	1	cada 15 días	3 - 4 meses	• infección HTA alteración electrolítica • Paraclínicos: Electrolitos, cortisol basal, Hemograma, glicemia, Uroanalisis, Función hepática y renal y EEG cada mes.
VI	<1	Cada 30 días, para luego suspender.	3 - 4 meses	• infección HTA alteración electrolítica • Paraclínicos: Electrolitos, cortisol basal, Hemograma, glicemia, Uroanálisis, Función hepática y renal y EEG cada mes.

El tiempo de cada fase es individual y depende de la respuesta terapéutica, la tolerancia al medicamento y los efectos adversos que se presenten

Se indica seguir las siguientes recomendaciones para disminuir el riesgo de efectos adversos en el paciente:

- En las etapas iniciales, evitar los sitios de aglomeración de personas y el contacto con personas con enfermedades infecciosas.
- Restringir la ingesta de sal; puede cambiarse al uso de sal potásica.
- Dar aporte suplementario de calcio.
- Vigilar patrón de sueño y comportamiento del niño.

Anexo 3. Comité de ética Universidad Nacional de Colombia

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA
ACTA DE EVALUACIÓN

***ACTA DE EVALUACIÓN**: N°. 020-223-15*
Fecha: 26 de noviembre 2015

*Nombre completo del proyecto: **"EVALUACIÓN DE NIVELES DE INTERLEUCINAS EN NIÑOS CON ENCEFALOPATÍA EPILÉPTICA CANDIDATOS AL USO DE HORMONA ANDRENOCORETICOTROPA (ACTH) DIAGNOSTICADOS EN LA LIGA CENTRAL CONTRA LA EPILEPSIA ENTRE LOS AÑOS 2013 Y 2016".***

***Versión número:** 01*

***Sometido por:** el estudiante Johann Sebastián Ortiz de la Rosa*

***Dirigido por:** la profesora Angélica María Uscategui Daccarett, Coordinadora Académica*

***Presentado por:** la profesora la profesora Angélica María Uscategui Daccarett*

***Departamento o Sección:** Posgrado de Neuropediatría de la Facultad de Medicina*

Fecha en que fue sometido a consideración del Comité: 26 de noviembre de 2015

***El COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACION DE LA FACULTAD DE MEDICINA.** Se constituyó mediante la Resolución 152, (Acta No. 43 del 5 de diciembre de 1996 actualizado mediante resolución 008 (acta 03 de 27 de enero de 2011), de Consejo de Facultad el Comité de Ética de investigación, el cual está regido por la Resolución 008430 del 4 de octubre do 1993 del Ministerio de Salud de Colombia que estableció las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud; los principios de la Asamblea Medica Mundial expuestos en su Declaración de Helsinki de 1964, última revisión del año 2000; y el código de regulaciones federales, titulo 45, parte 46, para la protección de los sujetos humanos, del departamento de salud y servicios humanos de los institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (Junio 18 de 1991).*

1. Sus miembros revisaron los siguientes documentos del presente proyecto:

- ✓ *Carta de presentación del proyecto generada por la unidad básica o el departamento.*
- ✓ *Copia de la evaluación de los jurados o pares académicos que evaluaron y aprobaron el trabajo)*
- ✓ *Copia del proyecto completo de investigación,*
- ✓ *Dos resúmenes ejecutivos*
- ✓ *Dos copias del consentimiento informado (en español y cuando la investigación lo amerite).*
- ✓ *Hojas de vida resumidas de los investigadores y coinvestigadores del proyecto*
- ✓ *Consideraciones éticas según resolución 8430 Ministerio de Salud.*
- ✓ *Resultados de evaluación por otros comités (si aplica)*

2. El presente proyecto fue evaluado y aprobado por los siguientes miembros del Comité:

1	*Amador Luis Roberto*	*Departamento de Patología*
2	*Arteaga Díaz Clara Eugenia*	*Departamento de Morfología*
3	*Duarte Gutiérrez Liz Marcela*	*Asesora Jurídica Facultad de Medicina*
4	*Guerrero Fonseca Carlos Arturo*	*Presidente Comité de Ética / Departamento de Ciencias Fisiológicas*
5	*Parra Pineda Mario Orlando*	*Departamento de Obstetricia y Ginecología*

Elb/. Jeannette P. Al.-

Carrera 30 No. 45-03, **FACULTAD DE MEDICINA**, Edificio 471 Piso 4°, Oficina 401
Teléfono: (57-1) 316 5251Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext. 15167 – 15008
Correo electrónico: eticasalud_fmbog@unal.edu.co
Bogotá, Colombia, Sur América

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA
ACTA DE EVALUACIÓN

3. El Comité consideró que el presente estudio:

a.Es válido desde el punto vista ético. La investigación involucra un riesgo igual al promedio para los sujetos que participan en ella. La investigación se ajusta a los estándares de la buena práctica clínica.

b.El Comité considera que las medidas que están siendo tomadas para proteger a los sujetos humanos son adecuadas

4. El Comité informará inmediatamente a las directivas institucionales:

a. Todo desacato de los investigadores a las solicitudes del Comité.
b. Cualquier suspensión o terminación de la aprobación por parte del Comité.

5. El Comité informará inmediatamente a las directivas, toda información que reciba acerca de:

a. Lesiones o daños a sujetos humanos con motivo de su participación en la investigación Problemas imprevistos que involucren riesgos para los sujetos u otras personas.
b. Cualquier cambio o modificación a este proyecto que haya sido revisado y aprobado por este comité

6. Cuando el proyecto sea aprobado, será por un periodo de un (1) año a partir de la fecha de aprobación.

7. El Investigador principal deberá:

a. Informar de cualquier cambio que se proponga introducir en el proyecto. Estos cambios no podrán ejecutarse sin la aprobación previa del COMITÉ DE ÉTICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA) excepto cuando sean necesarios para minimizar o suprimir un peligro inminente o un riesgo grave para los sujetos que participan en la investigación.
b. Avisar de cualquier situación imprevista que se considere implica algún signo de riesgo para los sujetos o la comunidad o el medio en el cual se lleva a cabo el estudio.
c. Informar de cualquier evento adverso serio de algún paciente, comunicando la situación al secretario y al presidente del Comité de Ética), de acuerdo con la normatividad que el INVIMA ha generado a este respecto.
d. Poner en conocimiento del comité toda información nueva importante respecto al estudio, que pueda afectar la relación riesgo/beneficio de los sujetos participantes.
e. Comunicar cualquier decisión tomada por otros comités con respecto a la investigación que se lleva a cabo.
f. Informar de la terminación prematura o suspensión del proyecto explicando las causas o razones.
g. Presentar a este comité un informe cuando haya transcurrido un año, contado a partir de la aprobación del proyecto. Los proyectos con duración mayor a un año, serán reevaluados a partir del informe de avance integrado.
h. Todos los proyectos deben entregar al finalizar un informe final de cierre del estudio, este cierre puede ser el informe final en formato completo o en formato de resumen de cierre de estudio, firmado por el investigador responsable del estudio.

8. Observaciones:

El comité considera que el proyecto de investigación no presenta dilemas éticos por lo tanto emite **Concepto Aprobatorio**.

Nombre: **CARLOS ARTURO GUERRERO FONSECA**
Título: PhD Doctorado en Bioquímica, MSc. en Farmacología y MSc. en Genética Humana
Cargo: Presidente Comité de Ética

Elb/. Jeannette P. Al.-

Carrera 30 No. 45-03, **FACULTAD DE MEDICINA**, Edificio 471 Piso 4º, Oficina 401
Teléfono: (57-1) 316 5251Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext. 15167 – 15008
Correo electrónico: eticasalud_fmbog@unal.edu.co
Bogotá, Colombia, Sur América

Anexo 4. Cronograma de actividades trabajo de grado

TÍTULO:

EVALUACIÓN DE NIVELES DE INTERLEUCINAS EN NIÑOS CON ENCEFALOPATÍA EPILÉPTICA, CANDIDATOS AL USO DE HORMONA ADRENOCORTICOTROPA (ACTH) DIAGNOSTICADOS EN LA LIGA CENTRAL CONTRA LA EPILEPSIA Y EL HOSPITAL DE LA MISERICORDIA ENTRE LOS AÑOS 2013 Y 2015

RESPONSABLE: DR. JOHANN SEBASTIAN ORTIZ DE LA ROSA

NIVEL: IV AÑO

POSGRADO: Neuropediatria

TUTORA: Dra. ANGÉLICA MARÍA USCÁTEGUI DACCARETT

FECHA: Octubre 2016

ACTIVIDADES	**FEBRERO**	**MARZO**	**ABRIL**	**MAYO**	**JUNIO**	**JULIO 2013-2015**	**AGOSTO 2013-2015**	**SEPTIEMBRE**	**DICIEMBRE**	**ENERO 2016**
Búsqueda de financiación	x	x	X	X	X	X				
Búsqueda y enrolamiento de pacientes	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Asesoría epidemiológica								x	x	x

ACTIVIDADES	FEBREO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO 2015	AGOSTO 2015	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMRBRE	DICIEMBRE	ENERO 2016
Diligenciamiento de la base de datos	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X	X	
Actualización Protocolo			X				X					

ACTIVIDADES	FEBREO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO 2016	AGOSTO 2016	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMRBRE	DICIEMBRE	ENERO 2017
Realización de estudios Moleculares							x					
Análisis e interpretación de resultados								x	x			
Finalización del trabajo de grado									X	X		

Se entregaron informe trimestrales de los avances del trabajo

Bibliografía

1. Engel J. ILAE Commission Report A Proposed Diagnostic Scheme for People with Epileptic Seizures and with Epilepsy : Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. 2001;42(6):796–803.

2. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, Van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. Epilepsia. 2010;51(4):676–85.

3. Vigevano F, Arzimanoglou A, Plouin P, Specchio N. Therapeutic approach to epileptic encephalopathies. Epilepsia. 2013;54(SUPPL.8):45–50.

4. Uscátegui AM. Inmunoterapia en epilepsia refractaria Immunotherapy in refractory epilepsy. Acta Neurológica Colomb. 2008;24:46–50.

5. Cohen-Sadan S, Kramer U, Ben-Zeev B, Lahat E, Sahar E, Nevo Y, et al. Multicenter long-term follow-up of children with idiopathic West syndrome: ACTH versus vigabatrin. Eur J Neurol. 2009;16(4):482–7.

6. Kivity S, Lerman P, Ariel R, Danziger Y, Mimouni M, Shinnar S. Long-term Cognitive Outcomes of a Cohort of Children with Cryptogenic Infantile Spasms Treated with High-dose Adrenocorticotropic Hormone. Epilepsia. 2004;45(3):255–62.

7. Oguni H, Yanagaki S, Hayashi K, Imai K, Funatsuka M, Kishi T, et al. Extremely low-dose ACTH step-up protocol for West syndrome: Maximum therapeutic effect with minimal side effects. Brain Dev. 2006;28(1):8–13.

8. Lin HC, Young C, Wang PJ, Lee WT, Shen YZ. ACTH therapy for Taiwanese children with West syndrome - Efficacy and impact on long-term prognosis. Brain Dev. 2006;28(3):196–201.

9. Campos-Castelló J. Estrategia terapéutica de las encefalopatías severas. Rev Neurol. 2001;32(9):860–6.

10. Kalra V, Gulati S, Pandey RM, Menon S. West syndrome and other infantile epileptic encephalopathies - Indian hospital experience. Brain Dev. 2002;24(2):130–9.

11. Okumura A, Tsuji T, Kato T, Natsume J, Negoro T, Watanabe K. ACTH therapy for generalized seizures other than spasms. Seizure. 2006;15(7):469–75.

12. Guevara-Campos J, González-de Guevara L. Síndrome de Landau-Kleffner: Análisis de 10 casos en Venezuela. Rev Neurol. 2007;44(11):652–6.

13. Vezzani A, Aronica E, Mazarati A, Pittman QJ. Epilepsy and brain inflammation. Exp Neurol. 2013;244:11–21.

14. Vezzani A, Balosso S, Ravizza T. The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. Brain Behav Immun. 2008;22(6):797–803.

15. Lucas S-M, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. Br J Pharmacol. 2006;147 Suppl:S232–40.

16. Devinsky O, Vezzani A, Najjar S, De Lanerolle NC, Rogawski M a. Glia and epilepsy: Excitability and inflammation. Trends Neurosci [Internet]. Elsevier Ltd; 2013;36(3):174–84. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2012.11.008

17. Galanopoulou AS. Basic mechanisms of catastrophic epilepsy - Overview from animal models. Brain Dev [Internet]. The Japanese Society of Child Neurology; 2013;35(8):748–56. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2012.12.005

18. Kalra V, Sharma S, Arya R. ACTH therapy in refractory generalized epilepsy. Indian J Pediatr. 2009;76(1):91–3.

19. Friedman A, Dingledine R. Molecular cascades that mediate the influence of inflammation on epilepsy. Epilepsia. 2011;52(SUPPL. 3):33–9.

20. Liu ZS, Wang QW, Wang FL, Yang LZ. Serum cytokine levels are altered in patients with West syndrome. Brain Dev. 2001;23(7):548–51.

21. Hegde M, Lowenstein DH. The search for circulating epilepsy biomarkers. Biomark Med [Internet]. 2014;8(3):413–27. Available from: http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L372815805

22. Brunson KL, Avishai-Eliner S, Baram TZ. ACTH treatment of infantile spasms: mechanisms of its effects in modulation of neuronal excitability. Int Rev Neurobiol. 2002;49(1):185–97.

23. Wang J, Wang J, Zhang Y, Yang G, Zhou WJ, Shang AJ, et al. Proteomic Analysis of Adrenocorticotropic Hormone Treatment of an Infantile Spasm Model Induced by N-Methyl-d-Aspartic Acid and Prenatal Stress. PLoS One. 2012;7(9):1–10.

24. Widjaja E, Go C, McCoy B, Snead OC. Neurodevelopmental outcome of infantile spasms: A systematic review and meta-analysis. Epilepsy Res [Internet]. Elsevier B.V.; 2015;109:155–62. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2014.11.012

25. Falip M, Salas-Puig X, Cara C. Causes of CNS inflammation and potential targets for anticonvulsants. CNS Drugs. 2013;27(8):611–23.

26. Pernhorst K, Herms S, Hoffmann P, Cichon S, Schulz H, Sander T, et al. TLR4, ATF-3 and IL8 inflammation mediator expression correlates with seizure frequency in human epileptic brain tissue. Seizure [Internet]. BEA Trading Ltd; 2013;22(8):675–8. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.seizure.2013.04.023

27. Rijkers K, Majoie HJ, Hoogland G, Kenis G, De Baets M, Vles JS. The role of interleukin-1 in seizures and epilepsy: A critical review. Exp Neurol [Internet]. Elsevier Inc.; 2009;216(2):258–71. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.12.014

28. Młodzikowska-Albrecht J, Steinborn B, Zarowski M. Cytokines, epilepsy, and antiepileptic drugs - Is there a mutual influence? Pharmacol Reports. 2007;59(2):129–38.

29. Munakata M, Togashi N, Sakamoto O, Haginoya K, Kobayashi Y, Onuma A, et al. Reduction in Glutamine / Glutamate Levels in the Cerebral Cortex after Adrenocorticotropic Hormone Therapy in Patients with West Syndrome. Tohoku J Exp Med. 2014;(mI):277–83.

30. Tekgul H, Polat M, Tosun A, Serdaroglu G, Kutukculer N, Gokben S. Cerebrospinal fluid interleukin-6 levels in patients with west syndrome. Brain Dev. 2006;28(1):19–23.

31. Haginoya K, Noguchi R, Zhao Y, Munakata M, Yokoyama H, Tanaka S, et al. Reduced levels of interleukin-1 receptor antagonist in the cerebrospinal fluid in patients with West syndrome. Epilepsy Res. 2009;85(2–3):314–7.

32. Yamanaka G, Kawashima H, Oana S, Ishida Y, Miyajima T, Kashiwagi Y, et al. Increased level of serum interleukin-1 receptor antagonist subsequent to resolution of clinical symptoms in patients with West syndrome. J Neurol Sci [Internet]. Elsevier B.V.; 2010;298(1–2):106–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2010.07.018

33. Choi J, Koh S. Role of brain inflammation in epileptogenesis. Yonsei Med J. 2008;49(1):1–18.

34. Lundström W, Fewkes NM, Mackall CL. IL-7 in human health and disease. Semin Immunol. 2012;24(3):218–24.

35. Milne CD, Paige CJ. IL-7: A key regulator of B lymphopoiesis. Semin Immunol. 2006;18(1):20–30.

36. Hu Y, Shen F, Crellin NK, Ouyang W. The IL-17 pathway as a major therapeutic target in autoimmune diseases. Ann N Y Acad Sci. 2011;1217(1):60–76.

37. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional Specialization of Interleukin-17 Family Members. Immunity [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;34(2):149–62. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2011.02.012

38. Uludag IF, Duksal T, Tiftikcioglu BI, Zorlu Y, Ozkaya F, Kirkali G. IL-1β, IL-6 and IL1Ra levels in temporal lobe epilepsy. Seizure [Internet]. BEA Trading Ltd; 2015;26:22–5. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.seizure.2015.01.009

39. Steinborn B, Zarowski M, Winczewska-Wiktor A, Wójcicka M, Młodzikowska-Albrecht J, Losy J. Concentration of Il-1β, Il-2, Il-6, TNFα in the blood serum in children with generalized epilepsy treated by valproate. Pharmacol Reports. 2014;66(6):972–5.

40. Biber K, Pinto-Duarte A, Wittendorp MC, Dolga AM, Fernandes CC, Von Frijtag

Drabbe Kunzel J, et al. Interleukin-6 upregulates neuronal adenosine A1 receptors: implications for neuromodulation and neuroprotection. Neuropsychopharmacology. 2008;33(9):2237–50.

41. Levy N, Milikovsky DZ, Baranauskas G, Vinogradov E, David Y, Ketzef M, et al. Differential TGF-β Signaling in Glial Subsets Underlies IL-6-Mediated Epileptogenesis in Mice. J Immunol [Internet]. 2015;1401446. Available from: http://www.jimmunol.org/content/early/2015/07/01/jimmunol.1401446.abstract

42. Vezzani A, Friedman A, Dingledine RJ. The role of inflammation in epileptogenesis. Neuropharmacology. 2013;69:16–24.

43. Fabene PF, Bramanti P, Constantin G. The emerging role for chemokines in epilepsy. J Neuroimmunol [Internet]. Elsevier B.V.; 2010;224(1–2):22–7. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.05.016

44. Velasco-Ramírez SF, Rosales-Rivera LY, Ramírez-Anguiano AC, Bitzer-Quintero ÓK. Citocinas y sistema nervioso: Relación con crisis convulsivas y epilepsia. Rev Neurol. 2013;57(4):171–7.

45. Shiihara T, Miyashita M, Yoshizumi M, Watanabe M, Yamada Y, Kato M. Peripheral lymphocyte subset and serum cytokine profiles of patients with West syndrome. Brain Dev [Internet]. Elsevier B.V.; 2010;32(9):695–702. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2009.11.001

46. Friedman A, Kaufer D, Heinemann U. Blood-brain barrier breakdown-inducing astrocytic transformation: Novel targets for the prevention of epilepsy. Epilepsy Res. 2009;85(2–3):142–9.

47. Marchi N, Granata T, Janigro D. Inflammatory pathways of seizure disorders. Trends Neurosci [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;37(2):55–65. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2013.11.002

48. Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. Nat Rev Neurol. 2011;7(1):31–40.

49. Diamond ML, Ritter AC, Failla MD, Boles J a., Conley YP, Kochanek PM, et al. IL-1β associations with posttraumatic epilepsy development: A genetics and biomarker cohort study. Epilepsia. 2014;55(7):1109–19.

50. Beghi E, Shorvon S. Antiepileptic drugs and the immune system. Epilepsia. 2011;52(SUPPL. 3):40–4.

51. Howell KB, Harvey AS, Archer JS. Epileptic encephalopathy: Use and misuse of a clinically and conceptually important concept. Epilepsia. 2016;57(3):343–7.

52. Goldberg EM, Coulter D a. Mechanisms of epileptogenesis: a convergence on neural circuit dysfunction. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2013 Apr 18;14(5):337–49. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrn3482

53. Lubin FD. Epileptogenesis: Can the science of epigenetics give us answers? Epilepsy Curr. 2012;12(3):105–10.

54. Alapirtti T, Rinta S, Hulkkonen J, Mäkinen R, Keränen T, Peltola J. Interleukin-6,

interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1beta production in patients with focal epilepsy: A video-EEG study. J Neurol Sci [Internet]. Elsevier B.V.; 2009;280(1–2):94–7. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2009.02.355

55. Lehtimäki KA, Liimatainen S, Peltola J, Arvio M. The serum level of interleukin-6 in patients with intellectual disability and refractory epilepsy. Epilepsy Res. 2011;95(1–2):184–7.

56. Guzzetta F, Cioni G, Mercuri E, Fazzi E, Biagioni E, Veggiotti P, et al. Neurodevelopmental evolution of West syndrome: A 2-year prospective study. Eur J Paediatr Neurol. 2008;12(5):387–97.

57. Kelley SA, Kossoff EH. Doose syndrome (myoclonic-astatic epilepsy): 40 years of progress. Dev Med Child Neurol. 2010;52(11):988–93.

58. Stephani U. The natural history of myoclonic astatic epilepsy (Doose syndrome) and Lennox-Gastaut syndrome. Epilepsia. 2006;47(SUPPL. 2):53–5.

59. Camfield PR. Definition and natural history of Lennox-Gastaut syndrome. Epilepsia. 2011;52(SUPPL. 5):3–9.