

Avances en el análisis de marcadores tisulares, al comparar tejido cerebral postquirúrgico con epilepsia resistente a medicamentos vs tejido cerebral neurotípico postmortem

Katherin Flórez^{1,2}, Maillyn A. Bedoya-Saldarriaga¹, Alejandro Herrera-Trujillo^{1,2,3}, Adolfo Sánchez-Escobar¹, Daniela Ortiz-Muñoz¹, Marcela Agudelo-Ríos¹, Carlos A. González-Acosta^{1,3}, Carlos R. Tolosa-Gaviria^{1,2,3}, Óscar A. Escobar-Vidarte^{1,2}, Oscar A. Plaza-Patiño⁴, Diego A. Vargas-Galván³, Christian A. Rojas-Cerón^{1,2}, Carlos A. Dorado Ramírez^{1,2}, Lina V. Becerra-Hernández¹, Luisa L. Rocha-Arrieta⁵, Norberto García-Cairasco⁶, Efraín Buriticá-Ramírez¹

1. Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia; **2.** Hospital Universitario del Valle E.S.E. Evaristo García, Cali, Colombia; **3.** Clínica Imbanaco, Cali, Colombia; **4.** Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, regional Suoccidente, Cali, Colombia; **5.** CIVESTAV, Ciudad de México, México; **6.** Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

Correo electrónico: efrain.buritica@correounivalle.edu.co

Palabras clave: Epilepsia refractaria, inmunohistoquímica, neuroinflamación, neurodesarrollo, citoarquitectura

Introducción

Introducción

La Epilepsia afecta a 65 millones de personas en el mundo. El 30% de los pacientes, aunque medicados, no logran control de las crisis (ERM). No existen marcadores de la epileptogénesis ni de la refractariedad. Algunos cambios estructurales y funcionales, como las malformaciones del desarrollo cortical, han sido considerados causas de las crisis.

Hipótesis

Existen variaciones en la expresión de marcadores de:

- Subpoblaciones de interneuronas Gabaérgicas corticales
- Pro- y Anti-inflamatorios
- Proliferación y Muerte celular

en el tejido de pacientes con ERM en comparación con el tejido de sujetos control postmortem neurotípicos.

Objetivos

-Identificar posibles variaciones en la expresión de marcadores citomorfológicos, de neurodesarrollo y neuroinflamación en el tejido cerebral con ERM.

-Establecer posibles correlaciones de estas variaciones con las variables sociodemográficas y clínicas de los pacientes.

Investigación

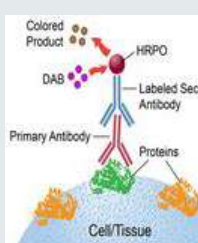
Metodología



10 sujetos postmortem neurotípicos que corresponden a **14** pacientes con ERM pareados por edad y sexo

A cada sujeto se le realizó marcaje simple por IHQ, y marcajes dobles y triples mediante IF.

El análisis se realizó con el uso de microscopia de campo claro y de confocal



- Fijación
- Criopreservación
- Corte a 30um
- Inmunohistoquímica (IHQ)
- Inmunofluorescencia (IF)

MARCADORES CELULARES

Linaje Celular: NeuN-GFAP-IBA1

Interneuronas: PV-CB-CR

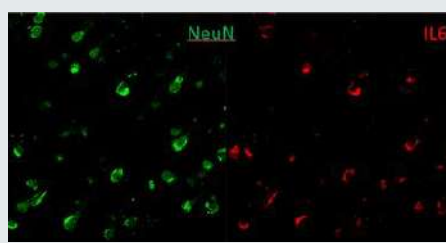
Inflamación: IL1 β - IL6- TGF β -HMGB1-CD68-CD163

Neurodesarrollo: Nes-Vim-Tuj1-BrdU-Casp3

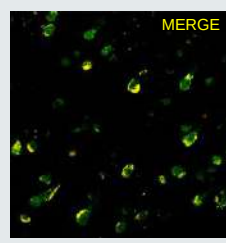
Resultados



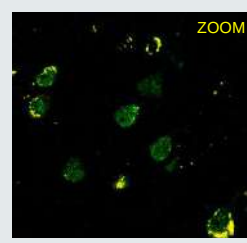
IHC – NeuN



NeuN- IL6

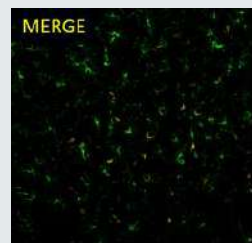


NeuN- IL6

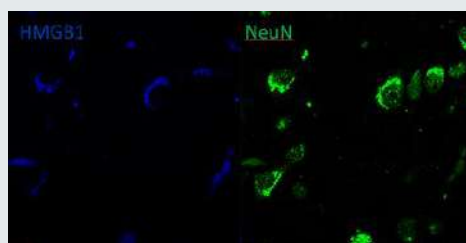
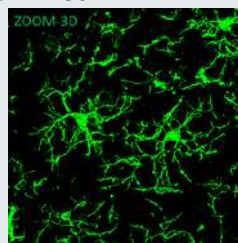


Pérdida de celularidad entre casos y controles

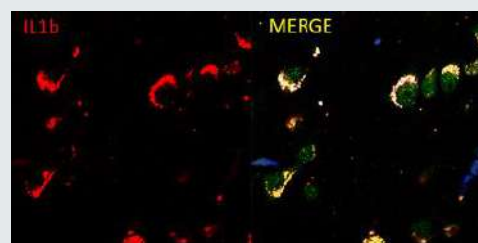
Co-expresión



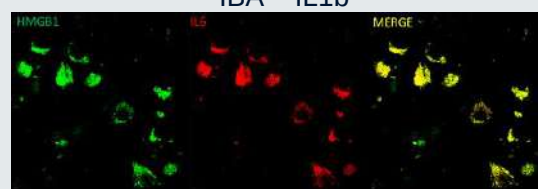
IBA – IL1b



HMGB1 – NeuN – IL1b



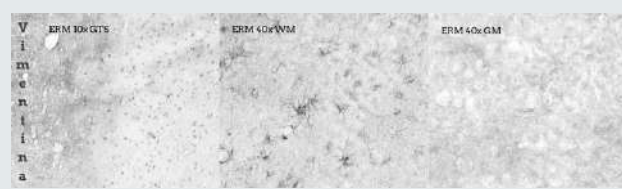
Triple marcaje



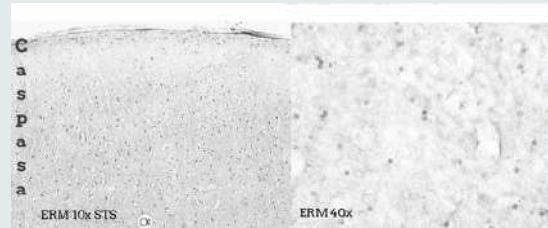
HMGB1 - IL6



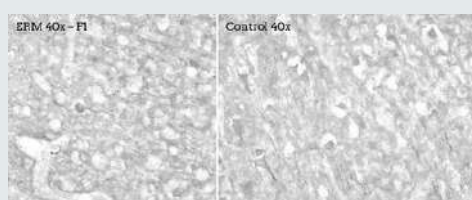
Nestina



Vimentina



Caspasa III



Tuj1

Conclusiones

Algunos de los hallazgos histológicos fortalecerían los resultados en sangre, en LCR o en biomodelos.

Los hallazgos evidencian variaciones en el tejido de pacientes con ERM que apoyan información proporcionada acerca de la disminución en expresión de interneuronas Gabaérgicas sugiriendo alteraciones en los procesos inhibitorios que regulan la generación de las crisis.

Se encuentran hallazgos que apoyan lo encontrado previamente en torno a la sobreexpresión de marcadores de neurodesarrollo en tejido de ERM en relación con el control como mecanismo inicial de neuroprotección ante las crisis, a expensas de la formación de circuitos aberrantes que tienden a propagar las mismas.

Los procesos de muerte celular aparecen como resultado de la inflamación, generando mayor afectación de la regulación excitación – inhibición asociados a la presencia de crisis.

La generación de crisis posiblemente implica alteraciones en el funcionamiento de la barrera hematoencefálica y la sobreactivación de mecanismos proinflamatorios con la participación de la IL6, con un proceso inicial posiblemente orquestado por las neuronas y las microglías.

Referencias

- Pitkänen A, Ekollé Ndode-Ekane X, Lapinlampi N, Puhakka N. Epilepsy biomarkers – Toward etiology and pathology specificity. Neurobiol Dis [Internet]. 2019;123:42–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2018.05.007>
- Cepeda C, André VM, Wu N, Yamazaki I, Uzgil B, Vinters HV, et al. Immature neurons and GABA networks may contribute to epileptogenesis in pediatric cortical dysplasia. Epilepsia [Internet]. 2007;48 Suppl 5(s5):79–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01293.x>
- Vinci L, Ravarino A, Fanos V, Naccarato AG, Senes G, Gerosa C, et al. Immunohistochemical markers of neural progenitor cells in the early embryonic human cerebral cortex. Eur J Histochem [Internet]. 2016;60(1):2563. Available from: <http://dx.doi.org/10.4081/ejh.2016.2563>
- Vezzani A, Friedman A, Dingledine RJ. The role of inflammation in epileptogenesis. Neuropharmacology [Internet]. 2013;69:16–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.04.004>

Permisos y Agradecimientos

Macroproyecto: Identificación de potenciales biomarcadores de epilepsia resistente a los medicamentos (ERM) en tejido cerebral de pacientes tratados quirúrgicamente. Vicerrectoría de la universidad del valle con el código ci-1892 y en Minciencias con el código 110684467973. Este proyecto ha sido financiado por Minciencias bajo el contrato 740-2020.

Convocatoria Interna – Apoyo a estudiantes de Doctorado #149 : Evaluación de marcadores de neurodesarrollo y muerte en tejido quirúrgico de paciente con epilepsia resistente a medicamentos (ERM). Vicerrectoría de Investigaciones de la universidad del Valle con el código 1980. Año 2023.

Aval del comité de ética de investigación en salud: código 066-019. Fecha 5 de agosto de 2022.