

Inflamasoma NLRP-3: blanco de estudio en el desarrollo de la epilepsia

NLRP-3 inflammasome: study target in the development of epilepsy

Kenia Pardo-Peña*
Salvador M. Martínez-Gallegos
Marco A. Noriega-Ruiz
Fridha V. Villalpando-Vargas

Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.

Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez 2100, Las Agujas, Nextipac, CP 45200 Zapopan, Jalisco, México.

*Autor para correspondencia: kenia.pardo@academicos.udg.mx

Resumen

Los inflammasomas se ensamblan en respuesta a una amplia gama de patrones asociados con patógenos o moléculas de daño en presencia de lesión cerebral, son complejos multiproteicos que comprenden un sensor, una proteína adaptadora y una enzima zimógena que activa la caspasa-1 para la secreción de proteínas maduras de IL-1 β e IL-18 que desencadenan piroptosis (muerte celular inducida por neuroinflamación), involucrada en la aparición y desarrollo de varios eventos fisiopatológicos. Hasta el momento se han descrito cuatro inflammasomas que reclutan la proteína adaptadora ASC (Apoptosis-associated speck-like) para activar la caspasa-1: NLRP-1, NLRP-3, NLRC4 y AIM2. La activación del inflammasoma NLRP-3 está mediada por variaciones en las concentraciones de K⁺, aumento de ATP extracelular y estrés oxidativo principalmente. Por ello, se le ha implicado en la patogenia de varios trastornos neurológicos como la epilepsia; trastorno neurológico caracterizado por la presencia de crisis espontáneas y recurrentes (CER) que afecta a alrededor de 70 millones de personas en el mundo. Las CER se generan por el establecimiento del epileptoma (área definida de epileptogénesis) desencadenado por factores genéticos o adquiridos que provocan modificaciones estructurales y funcionales, como la neuroinflamación que induce estrés oxidativo, pérdida neuronal, gliosis reactiva y reorganización sináptica patológica. La neuroinflamación puede ser preservada durante la epileptogénesis debido a la activación del inflammasoma NLRP-3. Por otro lado, se han utilizado una amplia variedad de inhibidores para alterar la secreción de IL-1 β e IL-18, inhibidores indirectos de NLRP-3, ASC y caspasa-1; sin embargo, estos solo perturban las vías de señalización sin regular directamente NLRP-3 y bloquear la respuesta neuroinflamatoria patológica. Por esta razón, es importante estudiar la activación y modulación de inflammasomas como NLRP-3 en procesos epileptogénicos para ampliar la visión sobre la neuroinflamación y sus posibles mecanismos involucrados en la epilepsia.

Palabras clave: Neuroinflamación, IL-1 β y epileptogénesis

Abstract

The inflammasome is assembled in response to a wide range of patterns associated with pathogens or damage molecules in presence of brain injury, they are multiproteic complexes that comprise a sensor, an adapter protein and a zymogenic enzyme that activates caspase-1 for secretion of mature proteins of IL-1 β and IL-18 that trigger pyroptosis (neuroinflammation-induced cell death) which is involved in the onset and development of several pathophysiological events. Until now, four inflammasomes have been described that recruit the Apoptosis-associated speck-like (ASC) adapter protein to activate caspase-1: NLRP-1, NLRP-3, NLRC4 and AIM2. The activation of the NLRP-3 inflammasomes are mediated by variations in K⁺ concentrations, increased extracellular ATP and oxidative stress mainly. Because of this, it has been implicated in the pathogenesis of several neurological disorders such as epilepsy; which is a neurological disorder characterized by the presence of spontaneous and a recurrent seizure (SRS) that affects around 70 million people in the world. SRS are generated by the establishment of the epileptome (defined area of epileptogenesis) triggered by genetic or acquired factors that cause structural and functional modifications, such as neuroinflammation that induces oxidative stress, neuronal loss, reactive gliosis and pathological synaptic reorganization. Neuroinflammation can be preserved during epileptogenesis due activation of the NLRP-3 inflammasome. On the other hand, a wide variety of inhibitors have been used to alter the secretion of IL-1 β and IL-18, indirect inhibitors of NLRP-3, ASC and caspase-1; however, these only disturb the signaling pathways without directly regulating NLRP-3 and blocked the pathological neuroinflammatory response. For this reason, it is important to study the activation and modulation of inflammasomes like NLRP-3 in epileptogenic processes to expand the view on neuroinflammation and its possible mechanisms involved in epilepsy.

Keywords: Neuroinflammation, IL-1 β and epileptogenesis

Introducción

La epilepsia es un trastorno cerebral crónico caracterizado por la presencia de actividad neuronal excesiva y atípica que genera crisis espontáneas recurrentes (CER), con consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales (Pitkänen *et al.*, 2016) que afectan alrededor de 70 millones de personas en el mundo (Thijs *et al.*, 2019; Löscher *et al.*, 2020), lo que representa aproximadamente el 1% de la población mundial (Ambrogini *et al.*, 2019). Las CER son generadas por el establecimiento del epileptoma a través de un proceso de epileptogénesis desencadenado por factores genéticos o adquiridos que provocan modificaciones estructurales en regiones del cerebro (Pitkänen *et al.*, 2016), así como modificaciones funcionales, como neuroinflamación y estrés oxidativo que en conjunto favorecen la pérdida neuronal, la gliosis reactiva, los brotes axonales y la reorganización sináptica patológica contribuyendo a la generación del epileptoma (Vezzani *et al.*, 2017).

La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) representa entre el 60 y el 70 % de las epilepsias farmacorresistentes (persistencia de las CER a pesar de haber utilizado al menos dos tratamientos con fármacos antiepilépticos apropiados y adecuados) (Chen *et al.*, 2015). Es el tipo más común de epilepsia adquirida focal, caracterizada por la presencia de CER, que puede estar antecedida por una lesión cerebral inicial como traumas craneoencefálicos, accidentes cerebrovasculares, hipoxia, malformaciones, infecciones y episodios de status epilepticus (SE) (Yuen *et al.*, 2018).

La ELT se caracteriza por presentar tres etapas características que pueden ser reproducidas en modelos animales por la administración de pilocarpina y ácido kaínico o por estimulación eléctrica (Becker, 2018). Estas tres etapas comienzan con un daño precipitante inicial denominado período agudo, en el cual se lleva a cabo una pérdida sustancial de neuronas, induciendo el proceso de epileptogénesis denominado período latente, caracterizado por presentar cambios morfológicos, moleculares, estructurales, neuroquímicos, electrofisiológicos y metabólicos que dan lugar a la generación de

epileptoma y al período crónico con la presencia de CER (Becker, 2018).

En respuesta a una lesión cerebral inicial, la microglía, los macrófagos y los astrocitos se activan a través de receptores de patrones moleculares asociados con patógenos (PAMP, por sus siglas en inglés, *Pathogen-Associated Molecular Patterns*) y patrones moleculares asociados al daño (DAMP, por sus siglas en inglés, *Damage-Associated Molecular Patterns*), como el aumento en las concentraciones de K⁺, el aumento de ATP extracelular, el estrés oxidativo, la expresión de interleucina (IL)-1 α y la proteína de alta movilidad del grupo 1 (HMGB1, por sus siglas en inglés, *high mobility group box 1*) (Lenárt *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2019), activando una plataforma molecular de complejos proteicos llamada inflammasoma (Meng *et al.*, 2014; Buelbas & Suarez 2015; Kim *et al.*, 2019), cuya función es actuar como sensor intracelular para detectar señales de peligro (Sharif *et al.*, 2019).

Los inflamasomas integran un receptor que se pueden clasificar en 3 grupos según sus características estructurales: los receptores tipo dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NLR, por sus siglas en inglés, *NOD-like receptors*), los receptores tipo ausente en melanoma 2 (ALR, por sus siglas en inglés, *AIM2-like receptor*) y los receptores de pirina (Sharma & Kanneganti, 2016). El receptor puede ser miembro de varias familias de receptores de reconocimiento de patrones que detectan PAMP o DAMP (Guo *et al.*, 2015). Posee una proteína adaptadora similar a las asociadas a la apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento y activación de caspasa (ASC, por sus siglas en inglés, *Apoptosis-associated speck-like*) y una enzima zimogénica (procaspasa-1) que al escindirse en su forma madura (caspasa-1) proteoliza a la IL-1 β y a la IL-18, lo que permite su secreción de forma madura lo que desencadena la piroptosis (muerte celular inducida por neuroinflamación), la cual está involucrada con el inicio y desarrollo de eventos fisiopatológicos (Malik & Kanneganti, 2017).

Hasta el momento, se han descrito cuatro inflamasomas que reclutan las ASC para activar la caspasa-1: NLRP-1, NLRP-3, NLRC4 y AIM2 (Lenárt *et al.*, 2016; Place *et al.*, 2018). La activación del inflammasoma NLRP-3 se ha asociado

con la etiología y progresión de diversos trastornos neurológicos como la migraña, el Alzheimer, el Parkinson y la epilepsia (Meng *et al.*, 2014; Lenárt *et al.*, 2016; Swanton *et al.*, 2018). Aunque la actividad del inflamasoma NLRP3 forma parte de las respuestas del sistema inmune innato que en principio son benéficas, la actividad interrumpida del inflamasoma se ha relacionado con patologías como lo es la epilepsia (Meng *et al.*, 2014). Ya que la neuroinflamación es una de las principales causas de epileptogénesis después de una lesión cerebral inicial, se ha propuesto que las interacciones neuroinflamatorias complejas podrían contribuir a cambios patológicos en el cerebro a través de múltiples escalas temporales y espaciales (Swanton *et al.*, 2018).

El estudio de la implicación de la activación del inflamasoma NLRP-3 en la generación del epileptoma debe considerarse como un objetivo de estudio en la epilepsia, dado que los procesos neuroinflamatorios se producen con posterioridad a una lesión cerebral inicial participando de forma crítica en los procesos epileptogénicos, motivo por el cual, el inflamasoma podría ser un potencial objeto de estudio en el desarrollo de alternativas terapéuticas como posibles agentes antiepileptogénicos. Actualmente existen reportes donde se asocia la participación del inflamasoma NLRP-3 con la etiología y desarrollo de diferentes trastornos neurológicos y específicamente la relación con la epilepsia; sin embargo, ninguno ha determinado la participación de la activación del inflamasoma NLRP-3 con la generación del epileptoma. Los hallazgos recopilados en esta revisión son relevantes para el conocimiento básico especializado en el área de la epilepsia, sobre la importancia del mecanismo de neuroinflamación inherente durante la epileptogénesis mediado por la activación del inflamasoma NLRP-3 que ha sido poco estudiada hasta el momento.

Ensamble y activación del inflamasoma NLRP-3

La proteína NLRP-3 consta de 3 dominios primarios: una repetición rica en leucina C-terminal (LRR, por sus siglas en inglés, *leucine-rich-repeat*), un dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD, por sus siglas en inglés, *nucleotide-binding oligomerization domain*) y un

dominio de pirina N-terminal (PYD, por sus siglas en inglés, *Pyrin-Domain*) (Jin & Xiao, 2015; Malik & Kanneganti, 2017). Los 2 dominios principales de la proteína ASC son un PYD y un dominio de reclutamiento de caspasas (CARD) (Jin & Xiao, 2015).

De estos componentes, los dominios PYD y CARD son los que participan en la formación del complejo proteico multimérico del inflamasoma mediante interacciones homotípicas. Ambos dominios forman parte de la superfamilia del pliegue del dominio de muerte (Dorfleutner *et al.*, 2015). Hay dos vías descritas de activación del inflamasoma NLRP-3: la activación canónica y no canónica (Kayagaki *et al.*, 2011; Guo *et al.*, 2015).

Activación canónica de NLRP-3

En la vía canónica se requieren dos señales para su activación y ensamblaje. La primera señal regula NLRP-3 a nivel transcripcional (Bauernfeind *et al.*, 2009) y la segunda lo regula a nivel postraduccionales (Juliana *et al.*, 2012). Se especula que esta activación bifásica sirve como medida preventiva de su activación accidental o descontrolada (Bauernfeind *et al.*, 2009).

La primera señal es inducida por la activación de NF- κ B que regula positivamente la expresión génica del NLRP-3 (IL-1 β e IL-18 comparten esta vía de expresión génica) (Bauernfeind *et al.*, 2009). Posteriormente, NLRP-3 pasa por cambios postraduccionales mediados por la enzima desubiquitinante BRCC3, que desubiquitina su dominio LRR (Juliana *et al.*, 2012; Py *et al.*, 2013; Rodgers *et al.*, 2014; Guo *et al.*, 2015). Adicionalmente, las proteínas ASC necesitan ser ubiquitinadas linealmente por la subunidad HOIL-1L del complejo de ensamblaje de ubiquitina lineal (Rodgers *et al.*, 2014). Estas modificaciones postraduccionales son indispensables para permitir que el NLRP-3 pueda identificar la segunda señal (Figura 1) (Rodgers *et al.*, 2014).

La segunda señal para que se ensamble el complejo multiproteico es diversa, ya que NLRP-3 responde a una amplia gama de estímulos como son el eflujo de K⁺, la entrada de Ca⁺⁺. La segunda señal para que se ensamble el complejo multiproteico es diversa, ya que NLRP-3 responde a una amplia gama de estímulos como son el eflujo de K⁺, la

entrada de Ca^{++} , La diversidad de las segundas señales de NLRP-3 hace que la interacción directa entre el receptor y la señal sea poco probable; por lo tanto, es posible que el mecanismo por el cual el receptor detecta la señal secundaria sea por una vía común activada por el inflammasoma (Figura 1) (Sharma & Kanneganti, 2016; Place & Kanneganti, 2018).

Una vez activado el inflammasoma, el primer paso para su ensamblaje es una oligomerización de sensores NLRP-3 mediada por NOD, el cual forma una estructura similar a un anillo que sirve como andamio y facilita la polimerización inducida por la nucleación del filamento ASC (mediante interacciones PYD/PYD) (Lu *et al.*, 2014). La nucleación de ASC genera una forma similar a un prión que se propaga a otras proteínas ASC (Cai *et al.*, 2014). Luego, los filamentos nucleados de ASC interactúan con pro-caspasa-1 mediante interacciones CARD/CARD y generan su propia forma similar a un prión. Es de resaltar que el ensamblaje se lleva a cabo gracias a la cinasa tipo serina/treonina NIMA related kinase 7 (Xu *et al.*, 2016). Finalmente, la proximidad de la proteína pro-caspasa-1 induce su maduración autoproteolítica, generando caspasa-1 activa (Guo *et al.*, 2015). Entonces, la caspasa-1 activa es capaz de escindir IL-1 β e IL-18 en sus formas maduras y activas (Guo *et al.*, 2015; Malik and Kanneganti, 2017).

Activación no canónica de NLRP-3

Se desconoce el mecanismo exacto por el cual el inflammasoma no canónico activa el inflammasoma NLRP-3, sin embargo, la activación del eje NLRP-3/ASC/caspasa-1 está señalizada por un mecanismo diferente originado por el inflammasoma no canónico de caspasa-11 (Kayagaki *et al.*, 2011). El inflammasoma no canónico está compuesto por caspasa-11 en roedores o sus homólogos en humanos caspasa-4/caspasa-5 (Yi, 2020). La caspasa-4/5/11 consta de un dominio CARD N-terminal, un dominio p20 y un dominio p10 C-terminal; los homólogos humanos sólo difieren en tamaño de la caspasa-11 de roedores (Yi, 2020). El inflammasoma no canónico de caspasa-11 es activado por el lipopolisacárido intracelular (LPS) a través de la interacción del componente lípido A

de LPS y el dominio CARD de caspasa-11 (Shi *et al.*, 2014). Sin embargo, estudios recientes han identificado nuevos agonistas del inflammasoma no canónico de caspasa-11 como el lipofosfoglicano (de Carvalho *et al.*, 2019) o fosfolípidos oxidados derivados de 1-pamitoil-2-araquidonoil-sn-glicero-3-fosforilcolina (Zanoni *et al.*, 2016).

Una vez que la caspasa-11 reconoce el LPS, se activa el inflammasoma no canónico mediante la oligomerización de los complejos LPS-caspasa-4/5/11 (Shi *et al.*, 2014). Luego, el inflammasoma no canónico activo de caspasa-11 escinde gasdermina-D (GSDMD) generando un fragmento N-terminal y C-terminal. El fragmento N-terminal (también conocido como fragmento GSDMD p30) es esencial para la piroptosis (Kayagaki *et al.*, 2015). GSDMD p30 se transloca a las membranas plasmática y mitocondrial y se une a lípidos ácidos, luego se oligomerizan en estructuras similares a anillos y forman poros transmembrana en la membrana; por lo tanto, el fragmento p30 facilita la piroptosis y la liberación de citocinas (Xia *et al.*, 2020). Su activación puede ser un resultado indirecto de la acción del fragmento GSDMD p30 (Kayagaki *et al.*, 2015) mediado por estímulos detectados por el inflammasoma NLRP-3, como la salida de iones de potasio K^+ facilitada a través de los poros transmembrana generados por el fragmento GSDMD p30 (Yi, 2020).

NLRP-3 y epileptogénesis

La epileptogénesis se define como el proceso por el cual una red cerebral que antes era normal presenta alteraciones funcionalmente que propician una mayor susceptibilidad a generar CER (Pitkänen *et al.*, 2015). Este proceso es inducido por un evento precipitante como un insulto epileptogénico o por alteraciones genéticas; los cuales afectan la red cerebral mediante alteraciones celulares, cambios transcriptómicos y epigenéticos, así como alteraciones en las vías moleculares (Devinsky *et al.*, 2018). Aunque los mecanismos celulares y moleculares de la epileptogénesis no están claros, uno de los mecanismos que participa de manera importante es la neuroinflamación (Vezzani *et al.*, 2019), caracterizada por la biosíntesis y liberación de moléculas inflamatorias por glía, neuronas y células endoteliales de la barrera hematoencefálica

(Van Vliet *et al.*, 2017). Se propone que procesos inflamatorios no regulados focales (origen en el SNC) o sistémicos (adquiridos a través de la circulación sistémica a través de una ruptura de la barrera hematoencefálica), conducen a una conectividad neural aberrante y a una red neuronal hiperexcitable, que median el inicio de la epilepsia (Choi, 2008; Musto *et al.*, 2016).

La neuroinflamación mediada por la activación del inflammasoma NLRP-3 y sus moléculas asociadas parecen tener una gran participación en el establecimiento y desarrollo de la epilepsia. La activación del inflammasoma NLRP-3 se produce por factores inductores como la generación de especies reactivas de oxígeno, altos niveles de ATP extracelular y cambios en la concentración de iones (K^+ principalmente), por lo que la excitotoxicidad, el incremento de Ca^{2+} intracelular y la acidosis representan mecanismos presentes durante el proceso epileptogénico, que pueden ser factores desencadenantes en la constante activación del inflammasoma NLRP-3 (Mariathasan *et al.*, 2006; Swanson *et al.*, 2019; Schroder and Tschopp, 2010).

Su activación conduce a la liberación de las citocinas proinflamatorias IL-1 β e IL-18 dependientes de la caspasa 1, así como la escisión de GSDMD (proteína citosólica), la cual forma poros en la membrana celular permitiendo que las citocinas sean liberadas al espacio intracelular lo que conduce a la muerte celular por piroptosis (Swanson *et al.*, 2019). Además, se ha encontrado que las moléculas asociadas a la piroptosis (como son IL1b, Casp1, Casp4, PY/CARD, GSDMD, NLRP-3, Aim2, Mefv, Tlr2, Tlr3, and Tlr4) se incrementan significativamente después del SE (Xia *et al.*, 2022). El incremento de IL-1 β retroalimenta el proceso de neuroinflamación que a su vez aumenta la excitabilidad neuronal y la hiperexcitabilidad, ya que la IL-1 β puede aumentar la liberación de glutamato por parte de las neuronas e inhibir su recaptura por los astrocitos, promoviendo la excitotoxicidad (Hu *et al.*, 2000). Este incremento de glutamato es captado través de la activación de receptores NMDA que son fosforilados en la subunidad 2B lo que resulta en una mayor entrada de Ca^{2+} neuronal (Viviani *et al.*, 2003) y una disminución de la inhibición mediada por GABA (Vezzani *et al.*, 2013).

El hipocampo es la segunda región con mayor expresión de IL-R1 así como de GSDMD en el cerebro, motivo por el cuál, la excitotoxicidad neuronal mediada por IL-1 β podría influir notablemente en la viabilidad y la incautación del umbral de las neuronas en esta área (Faghihi and Moustafa, 2016; Xia *et al.* 2022). El inflammasoma NLRP-3 es una vía importante de la liberación de IL- β (Lénárt *et al.*, 2016), lo que podría favorecer las alteraciones moleculares responsables de la epileptogénesis y promover el desarrollo de las CER (Shimada *et al.*, 2014).

El primer reporte experimental sobre la asociación del inflammasoma NLRP3 y la epilepsia lo reportó Meng *et al.*, (2014) en un modelo de kindling eléctrico en la amígdala, donde 3 horas después del SE, comienza un incremento significativo en la expresión del sensor NLRP3, así como de sus componentes la IL-1 β y la caspasa 1, aumentando de manera progresiva hasta las 24 horas. La activación del inflammasoma NLRP-3 en otros modelos de epilepsia también ha sido corroborada, ya se ha observado un incremento de su expresión y contenido de proteína de IL-1 β e IL-18 de 24 a 72 horas después del SE inducido por pilocarpina (Zhang *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2020), ácido kaínico (He *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2019;) o kindling con pentilentetrazol (PTZ) (Rong *et al.*, 2019) dentro del periodo agudo (24 a 72 horas) y en la fase temprana de epileptogénesis (7-15 días). Los incrementos en la expresión de IL-1 β e IL-18 también se han reportado tanto en tejido como en sangre en pacientes con epilepsia refractaria (Wu *et al.*, 2020), pacientes con ELT mesial y en pacientes con epilepsia focal de origen desconocido (Ulusoy *et al.*, 2020). Por otra parte, se ha reportado que se presenta una proliferación de células gliales e incrementos en la expresión de NLRP-3 en la corteza y el hipocampo pacientes con epilepsia del lóbulo temporal y refractaria, mecanismo que podría ser el responsable, al menos en parte, del aumento de la expresión de caspasa-1 e IL-1 β (Wu *et al.*, 2020; de Brito *et al.*, 2021). Además Rev-Er α , una proteína que regula a la baja el inflammasoma NLRP-3, se encontró una disminución de su expresión en la neocorteza de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal mesial (Yue *et al.*, 2020).

El papel de los procesos neuroinflamatorios involu-

crados con el desarrollo y progreso de las CER, se ha asociado a la activación del inflammasoma NLRP-3 y la expresión de IL-1 β , por lo que la modulación de su expresión se ha relacionado con la disminución de algunas de las consecuencias neurobiológicas más representativas de la epileptogénesis, lo cual representa un potencial blanco terapéutico de estudio en la epilepsia.

Blancos terapéuticos en la epileptogénesis asociados con la actividad del inflammasoma NLRP-3

El estudio de la modulación selectiva del inflammasoma NLRP-3 como blanco terapéutico en la epilepsia es reciente y reducido, pero se ha mostrado que su inhibición selectiva mediante agentes antiinflamatorios y antioxidantes, podría ayudar al tratamiento de las consecuencias neurobiológicas que se preceden a una lesión cerebral.

La inhibición farmacológica de NLRP3 y caspasa-1 mediante la Huperzina A, mostró potenciales efectos neuroprotectores para mejorar la severidad de las crisis y algunos déficits de memoria a través de la atenuación de la neuroinflamación en ratas tratadas con ácido kaínico (Mohseni-Moghaddam *et al.*, 2019).

Por otra parte, se ha reportado que la inhibición del inflammasoma NLRP-3 con la administración de curcumina, mejoró los procesos cognitivos posteriores al SE en un modelo de ácido kaínico 8 días post-SE (He *et al.*, 2018), así como con la administración de flavonoides naturales como la Isoliquiritigenina (Zhu *et al.*, 2019) a los 7 días post-SE. También se encontró una disminución en la expresión de NLRP-3, ASC, y caspase-1 con la administración de Amentoflavona a los 30 días en un modelo de kindling de PTZ, misma que reflejó una menor susceptibilidad de las crisis, una reducción de la disfunción cognitiva y la apoptosis de las neuronas del hipocampo en ratones (Rong *et al.*, 2019).

La administración de SR9009 un agonista específico Rev-Erba α mostró efectos en el hipocampo de ratones sobre las reacciones inflamatorias (activación del inflammasoma NLRP-3, ASC, caspasa-1, IL-1 β , IL-18, IL-6 y TNF- α), la proliferación glial y la pérdida neuronal después de

un SE inducido por pilocarpina (Yue *et al.*, 2020). De igual forma, la administración de ibuprofeno mostró efectos antiinflamatorios, neuroprotectores y antiepilépticos, ya que con la disminuyó la secreción de COX-2, inhibió la activación del inflammasoma NLRP-3 y la IL-18. Además, en registros patch-clamp de células enteras, redujo la frecuencia, la latencia y la duración de las crisis en ratas epilépticas (Liu *et al.*, 2020). Li *et al.* (2021), han reportado que la Agmantina reduce las crisis epilépticas y el daño neuronal del hipocampo al inhibir la piroptosis mediada por GSDMD, la cual reduce los niveles de GSDMD p30, NLRP-3, ASC, caspasa-1 e IL-1 β .

En resumen, se ha demostrado la alta expresión del inflammasoma NLRP-3 así como de sus componentes en diversos modelos experimentales y en pacientes de epilepsia, a lo cual se le asocia una interdependencia entre su activación y los diversos marcadores epileptogénicos posteriores a una lesión cerebral, la inhibición del inflammasoma NLRP-3 debe ser considerada como una estrategia farmacológica antiepileptogénica que debe ser estudiada con mayor profundidad dada su potencial propiedad neuroprotectora en el proceso epileptogénico.

Conclusión

La modulación selectiva de la activación del inflammasoma NLRP-3 puede desempeñar un papel importante en la reducción de la epileptogénesis, ya que los factores que participan en las alteraciones celulares y moleculares ocurren después de su activación, por lo que el estudio del inflammasoma NLRP-3 es prometedor para la terapéutica antiinflamatoria selectiva, ya que exige los mecanismos esenciales de defensa inmunológica, pudiendo prevenir o reducir el establecimiento del epileptoma así como sus consecuencias neurobiológicas y cognitivas que favorecen el desarrollo y establecimiento de la epilepsia.

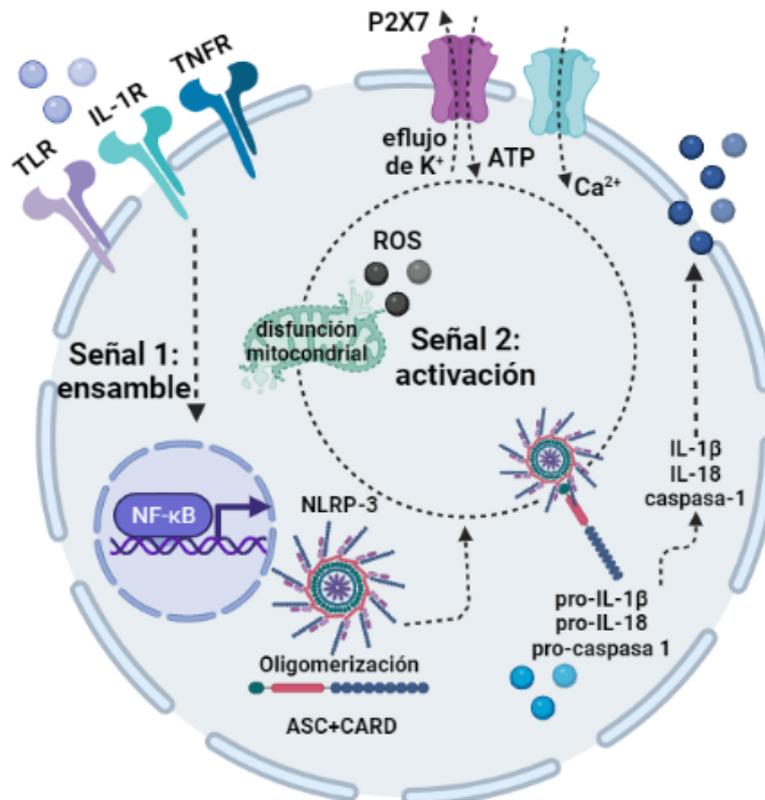


Figura 1. Activación por vía canónica del NLRP-3. Se requieren dos señales para su activación y ensamblaje. La primera señal es inducida por la activación de NF-κB que regula positivamente la expresión génica del NLRP-3. Posteriormente, se efectúan modificaciones postraduccionales de NLRP-3 que permiten su ensamblaje ASC+CARD y reconocer la segunda señal. Esta segunda señal permite la activación de NLRP-3, cabe destacar que esta señal es diversa como son el eflujo de K⁺, la entrada de Ca²⁺, aumento de ATP extracelular, especies reactivas de oxígeno (ROS), entre otros. Finalmente, la proximidad de la proteína pro-caspasa-1 induce su maduración autoproteolítica, generando caspasa-1 activa la cual es capaz de escindir IL-1β e IL-18 en sus formas maduras y activas.

Literatura citada

- Ambrogini, P., Torquato, P., Bartolini, D., Albertini, M. C., Lattanzi, D., Di Palma, M., Marinelli, R., Betti, M., Minelli, A., Cuppini, R., & Galli, F. (2019). Excitotoxicity, neuroinflammation and oxidant stress as molecular bases of epileptogenesis and epilepsy-derived neurodegeneration: The role of vitamin E. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1865(6), 1098-1112. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.01.026>
- Bauernfeind, F. G., Horvath, G., Stutz, A., Alnemri, E. S., MacDonald, K., Speert, D., Fernandes-Alnemri, T., Wu, J., Monks, B. G., Fitzgerald, K. A., Hornung, V., & Latz, E. (2009). Cutting Edge: NF- κ B Activating Pattern Recognition and Cytokine Receptors License NLRP3 Inflammasome Activation by Regulating NLRP3 Expression. *The Journal of Immunology*, 183(2), 787-791. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901363>
- Becker, A.J. (2018). Review: Animal models of acquired epilepsy: insights into mechanisms of human epileptogenesis. *Neuropathology and applied neurobiology*, 44, 112-129. <https://doi.org/10.1111/nan.12451>
- Buelvas-Jimenez, N., & Suarez-Useche, R. J. (2015). Regulación del inflammasoma NLRP3: bioquímica y más allá de ella. *Latreia* 2, 170-180.
- Cai, X., Chen, J., Xu, H., Liu, S., Jiang, Q. X., Halfmann, R., & Chen, Z. J. (2014). Prion-like polymerization underlies signal transduction in antiviral immune defense and inflammasome activation. *Cell*, 156(6), 1207-1222. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.01.063>
- Chen, Z., Wen, L., Martin, M., Hsu, C. Y., Fang, L., Lin, F. M., ... & Shyy, J. Y. (2015). Oxidative stress activates endothelial innate immunity via sterol regulatory element binding protein 2 (SREBP2) transactivation of microRNA-92a. *Circulation*, 131(9), 805-814. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013675>
- Choi, J., & Koh, S. (2008). Role of brain inflammation in epileptogenesis. *Yonsei Medical Journal*, 49, 1. <https://doi.org/10.3349/ymj.2008.49.1.1>
- De Brito-Toscano, E. C., Vieira, É. L. M., Dias, B. B. R., Caliari, M. V., Gonçalves, A. P., Giannetti, A. V., ... & Teixeira, A. L. (2021). NLRP3 and NLRP1 inflammasomes are up-regulated in patients with mesial temporal lobe epilepsy and may contribute to overexpression of caspase-1 and IL- β in sclerotic hippocampi. *Brain Research*, 1752, 147230. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147230>
- de Carvalho, R. V. H., Andrade, W. A., Lima-Junior, D. S., Dilucca, M., de Oliveira, C. V., Wang, K., Nogueira, P. M., Rugani, J. N., Soares, R. P., Beverley, S. M., Shao, F., & Zamboni, D. S. (2019). Leishmania Lipophosphoglycan Triggers Caspase-11 and the Non-canonical Activation of the NLRP3 Inflammasome. *Cell Reports*, 26(2), 429-437. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.047>
- Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T. J., Jette, N., Scheffer, I. E., De Curtis, M., & Perucca, P. (2018). Epilepsy. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, 18024. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.24>
- Dorfleutner, A., Chu, L., & Stehlik, C. (2015). Inhibiting the inflammasome: One domain at a time. *Immunological Reviews*, 265(1), 205-216. <https://doi.org/10.1111/imr.12290>
- Faghihi, F., & Moustafa A. A. (2016). Impaired neurogenesis of the dentate gyrus is associated with pattern separation deficits: A computational study. *Journal of Integrative Neuroscience*, 15(3), 277-293. <https://doi.org/10.1142/S0219635216500175>
- Guo, H., Callaway, J. B., & Ting, J. P. Y. (2015). Inflammasomes: Mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature Medicine*, 21(7), 677-687. <https://doi.org/10.1038/nm.3893>
- He, Q., Jiang, L., Man, S., Wu, L., Hu, Y., & Chen, W. (2018). Curcumin reduces neuronal loss and inhibits the NLRP3 inflammasome activation in an epileptic rat model. *Current Neurovascular Research*, 15(3), 186-192. <https://doi.org/10.2174/1567202615666180731100224>

- Hu, S., Sheng, W. S., Ehrlich, L. C., Peterson, P. K., & Chao, C. C. (2000). Cytokine effects on glutamate uptake by human astrocytes. *Neuroimmunomodulation*, 7(3), 153-159. <https://doi.org/10.1159/000026433>
- Jin, T., & Xiao, T. S. (2015). Activation and assembly of the inflammasomes through conserved protein domain families. *Apoptosis*, 20(2), 151-156. <https://doi.org/10.1007/s10495-014-1053-5>
- Juliana, C., Fernandes-Alnemri, T., Kang, S., Farias, A., Qin, F., & Alnemri, E. S. (2012). Non-transcriptional priming and deubiquitination regulate NLRP3 inflammasome activation. *Journal of Biological Chemistry*, 287(43), 36617-36622. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.407130>
- Kayagaki, N., Warming, S., Lamkanfi, M., Walle, L. Vande, Louie, S., Dong, J., Newton, K., Qu, Y., Liu, J., Heldens, S., Zhang, J., Lee, W. P., Roose-Girma, M., & Dixit, V. M. (2011). Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, 479(7371), 117-121. <https://doi.org/10.1038/nature10558>
- Kayagaki, N., Stowe, I. B., Lee, B. L., O'Rourke, K., Anderson, K., Warming, S., ... & Dixit, V. M. (2015). Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, 526(7575), 666-671. <https://doi.org/10.1038/nature15541>
- Kim, S. K., Choe, J. Y., & Park, K. Y. (2019). Anti-inflammatory effect of artemisinin on uric acid-induced NLRP3 inflammasome activation through blocking interaction between NLRP3 and NEK7. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 517(2), 338-345. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.07.087>
- Lénárt, N., Brough, D., & Dénes, Á. (2016). Inflammasomes link vascular disease with neuroinflammation and brain disorders. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 36(10), 1668-1685. <https://doi.org/10.1177/0271678X16662043>
- Liu, R., Wu, S., Guo, C., Hu, Z., Peng, J., Guo, K., ... & Li, J. (2020). Ibuprofen exerts antiepileptic and neuroprotective effects in the rat model of pentylenetetrazol-induced epilepsy via the COX-2/NLRP3/IL-18 pathway. *Neurochemical Research*, 45(10), 2516-2526. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03109-9>
- Li, X., Lin, J., Hua, Y., Gong, J., Ding, S., Du, Y., ... & Xu, H. (2021). Agmatine Alleviates Epileptic Seizures and Hippocampal Neuronal Damage by Inhibiting Gasdermin D-Mediated Pyroptosis. *Frontiers in Pharmacology*, 2034. doi: 10.3389/fphar.2021.627557.
- Löscher, W., Potschka, H., Sisodiya, S. M., & Vezzani, A. (2020). Drug resistance in epilepsy: clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options. *Pharmacological Reviews*, 72(3), 606-638. <https://doi.org/10.1124/pr.120.019539>
- Lu, A., Magupalli, V. G., Ruan, J., Yin, Q., Atianand, M. K., Vos, M. R., Schröder, G. F., Fitzgerald, K. A., Wu, H., & Egelman, E. H. (2014). Unified polymerization mechanism for the assembly of asc-dependent inflammasomes. *Cell*, 156(6), 1193-1206. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.008>
- Malik, A., & Kanneganti, T. D. (2017). Inflammasome activation and assembly at a glance. *Journal of Cell Science*, 130(23), 3955-3963. <https://doi.org/10.1242/jcs.207365>
- Mariathasan, S., Weiss, D. S., Newton, K., McBride, J., O'Rourke, K., Roose-Girma, M., ... & Dixit, V. M. (2006). Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature*, 440(7081), 228-232. <https://doi.org/10.1038/nature04515>
- Meng, X. F., Wang, X. L., Tian, X. J., Yang, Z. H., Chu, G. P., Zhang, J., ... & Zhang, C. (2014). Nod-like receptor protein 1 inflammasome mediates neuron injury under high glucose. *Molecular Neurobiology*, 49(2), 673-684. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8551-2>
- Mohseni-Moghaddam, P., Sadr, S. S., Roghani, M., Arabzadeh, S., Khamse, S., Zamani, E., ... & Moradi, F. (2019). Huperzine A ameliorates cognitive dysfunction and neuroinflammation in kainic acid-induced epileptic rats by antioxidant activity and NLRP 3/caspase-1

- pathway inhibition. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 46(4), 360-372. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13064>.
- Musto, A. E., Rosencrans, R. F., Walker, C. P., Bhattacharjee, S., Raulji, C. M., Belayev, L., ... & Bazan, N. G. (2016). Dysfunctional epileptic neuronal circuits and dysmorphic dendritic spines are mitigated by platelet-activating factor receptor antagonism. *Scientific Reports*, 6(1), 1-16. <https://doi.org/10.1038/srep30298>
- Pitkänen, A., Lukasiuk, K., Dudek, F., & Staley, K. (2015). Epileptogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 196-199. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022822>
- Pitkänen, A., Löscher, W., Vezzani, A., Becker, A. J., Simonato, M., Lukasiuk, K., ... & Beck, H. (2016). Advances in the development of biomarkers for epilepsy. *The Lancet Neurology*, 15(8), 843-856. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00112-5)
- Place, D. E., & Kanneganti, T. D. (2018). Recent advances in inflammasome biology. *Current Opinion in Immunology*, 50, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2017.10.011>
- Py, B. F., Kim, M. S., Vakifahmetoglu-Norberg, H., & Yuan, J. (2013). Deubiquitination of NLRP3 by BRCC3 Critically Regulates Inflammasome Activity. *Molecular Cell*, 49(2), 331-338. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.11.009>
- Rodgers, M. A., Bowman, J. W., Fujita, H., Orazio, N., Shi, M., Liang, Q., Amatya, R., Kelly, T. J., Iwai, K., Ting, J., & Jung, J. U. (2014). The linear ubiquitin assembly complex
- (LUBAC) is essential for NLRP3 inflammasome activation. *Journal of Experimental Medicine*, 211(7), 1333-1347. <https://doi.org/10.1084/jem.20132486>
- Rong, S., Wan, D., Fan, Y., Liu, S., Sun, K., Huo, J., ... & Sun, T. (2019). Amentoflavone affects epileptogenesis and exerts neuroprotective effects by inhibiting NLRP3 inflammasome. *Frontiers in Pharmacology*, 856. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00856>
- Schroder, K., & Tschopp J. (2010). The inflammasomes. *Cell*, 140: 821-32.
- Sharif, H., Wang, L., Wang, W. L., Magupalli, V. G., Andreeva, L., Qiao, Q., ... & Wu, H. (2019). Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome. *Nature*, 570(7761), 338-343. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1295-z>
- Sharma, D., & Kanneganti, T. D. (2016). The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. *Journal of Cell Biology*, 213(6), 617-629. <https://doi.org/10.1083/jcb.201602089>
- Shi, J., Zhao, Y., Wang, Y., Gao, W., Ding, J., Li, P., Hu, L., & Shao, F. (2014). Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*, 514(7521), 187-192. <https://doi.org/10.1038/nature13683>
- Shimada, T., Takemiya, T., Sugiura, H., & Yamagata, K. (2014). Role of inflammatory mediators in the pathogenesis of epilepsy. *Mediators of Inflammation*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/901902>
- Swanson, K. V., Deng, M., & Ting, J. P. Y. (2019). The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nature Reviews Immunology*, 19(8), 477-489. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0>
- Swanton, T., Cook, J., Beswick, J. A., Freeman, S., Lawrence, C. B., & Brough, D. (2018). Is Targeting the Inflammasome a Way Forward for Neuroscience Drug Discovery? *SLAS Discovery*, 23(10), 991-1017. <https://doi.org/10.1177/2472555218786210>
- Thijs, R. D., Surges, R., O'Brien, T. J., & Sander, J. W. (2019). Epilepsy in adults. *The Lancet*, 393(10172), 689-701. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32596-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32596-0)
- Ulusoy, C., Vanlı-Yavuz, E. N., Şanlı, E., Timirci-Kahraman, Ö., Yılmaz, V., Bebek, N., ... & Tüzün, E. (2020). Peripheral blood expression levels of inflammasome complex components in two different focal epilepsy syndromes. *Journal of Neuroimmunology*, 347, 577343. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577343>

- Van Vliet, E. A., Aronica, E., Vezzani, A., & Ravizza, T. (2018). Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarker candidates in epilepsy: emerging evidence from preclinical and clinical studies. *Neuropathology and applied Neurobiology*, 44(1), 91-111. <https://doi.org/10.1111/nan.12444>
- Vezzani, A., Friedman, A., & Dingledine, R. J. (2013). The role of inflammation in epileptogenesis. *Neuropharmacology*, 69, 16-24. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.04.004>
- Vezzani, A., Pascente, R., & Ravizza, T. (2017). Biomarkers of epileptogenesis: the focus on glia and cognitive dysfunctions. *Neurochemical Research*, 42(7), 2089-2098. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2271-3>
- Vezzani, A., Balosso, S., & Ravizza, T. (2019). Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 15(8), 459-472. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0217-x>
- Viviani, B., Bartesaghi, S., Gardoni, F., Vezzani, A., Behrens, M. M., Bartfai, T., ... & Marinovich, M. (2003). Interleukin-1 β enhances NMDA receptor-mediated intracellular calcium increase through activation of the Src family of kinases. *Journal of Neuroscience*, 23(25), 8692-8700. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-25-08692.2003>
- Wu, C., Zhang, G., Chen, L., Kim, S., Yu, J., Hu, G., ... & Huang, S. (2020). The role of NLRP3 and IL-1 β in refractory epilepsy brain injury. *Frontiers in Neurology*, 10, 1418. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01418>
- Xia, S., Hollingsworth, L. R., & Wu, H. (2020). Mechanism and regulation of gasdermin-mediated cell death. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 12(3), 1-14. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a036400>
- Xia L, Liu L, Wang Q, Ding J, Wang X. Relationship Between the Pyroptosis Pathway and Epilepsy: A Bioinformatic Analysis. *Front Neurol*. 2022 Jan 14;12:782739. doi: 10.3389/fneur.2021.782739. PMID: 35095728; PMCID: PMC8795950.
- Xu, J., Lu, L., & Li, L. (2016). NEK7: a novel promising therapy target for NLRP3-related inflammatory diseases. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 48(10), 966-968. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmw080>
- Yi, Y. S. (2020). Caspase-11 non-canonical inflammasome: Emerging activator and regulator of infection-mediated inflammatory responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8), 1-11. <https://doi.org/10.3390/ijms21082736>
- Yue, J., Wei, Y. J., Yang, X. L., Liu, S. Y., Yang, H., & Zhang, C. Q. (2020). NLRP3 inflammasome and endoplasmic reticulum stress in the epileptogenic zone in temporal lobe epilepsy: molecular insights into their interdependence. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 46(7), 770-785. <https://doi.org/10.1111/nan.12621>
- Yuen, A. W., Keezer, M. R., & Sander, J. W. (2018). Epilepsy is a neurological and a systemic disorder. *Epilepsy & Behavior*, 78, 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.10.010>
- Zandoni, I., Tan, Y., Gioia, M. Di, Broggi, A., Ruan, J., Shi, J., Donado, C. A., Shao, F., Wu, H., Springstead, J. R., & Kagan, J. C. (2016). An endogenous caspase-11 ligand elicits interleukin-1 release from living dendritic cells. *Science*, 352(6290), 1232-1236. <https://doi.org/10.1126/science.aaf3036>
- Zhang, H., Chu, X., Fu, T., Lv, H., Kong, Q., & Hao, Y. (2017). Inhibitory effect of interleukin-1 β antibody for NLRP3 inflammasome on epilepsy rat model. *Int J Clin Exp Pathol*, 10(2), 1847-1853.
- Zhu, X., Liu, J., Huang, S., Zhu, W., Wang, Y., Chen, O., & Xue, J. (2019). Neuroprotective effects of isoliquiritigenin against cognitive impairment via suppression of synaptic dysfunction, neuronal injury, and neuroinflammation in rats with kainic acid-induced seizures. *International Immunopharmacology*, 72, 358-366. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.04.028>