

Efecto de los antioxidantes en la epilepsia del lóbulo temporal

Effect of antioxidants in temporal lobe epilepsy

Kenia Pardo-Peña*

Salvador M. Martínez-Gallegos

Marco A. Noriega-Ruiz

Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México. Dirección: Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez 2100, Las Agujas, Nextipac, CP 45200 Zapopan, Jalisco, México.

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

Resumen

La epilepsia es un trastorno neurológico frecuente que afecta alrededor de 70 millones de personas en el mundo, lo que representa aproximadamente el 1% de la población mundial. Las crisis convulsivas son episodios transitorios producidos por descargas excesivas neuronales. Están caracterizadas por cambios conductuales transitorios que son causados por una sincronización neuronal anormal y excesiva en el cerebro. Estos episodios pueden desencadenarse por factores genéticos o adquiridos que alteran la función cerebral normal como enfermedades autoinmunes, mutaciones genéticas, encefalopatías, traumas craneoencefálicos, accidentes cerebrovasculares, crisis febriles o *status epilepticus*. La epilepsia del lóbulo temporal es un trastorno neurológico grave, representa entre el 60 y el 70% de la epilepsia farmacorresistente y es una forma importante de epilepsia adquirida por alguno de los factores mencionados. Las crisis convulsivas pueden generar ciclos recurrentes de excitotoxicidad y estrés oxidativo que causan daño neuronal y muerte celular. El estrés oxidativo es un desequilibrio entre el sistema endógeno antioxidante y la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), en consecuencia, se produce la oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos en el cerebro, dando como resultado apoptosis, proteopatías, disfunción mitocondrial, activación de células gliales y neuroinflamación. Las ROS son las responsables de la generación del estrés oxidativo y podrían estar involucradas con el daño neuronal que contribuye al establecimiento de la epileptogénesis y las crisis espontáneas en pacientes y modelos experimentales. La administración de agentes con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, podrían representar una alternativa terapéutica dirigida a disminuir el estrés oxidativo durante la epileptogénesis o las crisis convulsivas para disminuir la severidad de los procesos patológicos implicados, y de esta forma atenuar las consecuencias neurobiológicas que se presentan en la epilepsia del lóbulo temporal.

Palabras clave: Epilepsia, Tratamientos antiepileptogénicos, Alopurinol, Ácido elálgico y Estrés oxidativo.

Abstract

Epilepsy is a common neurological disorder that affects around 70 million people in the world, which represents approximately 1% of the world population. Seizures are transitory episodes produced by excessive neuronal discharges. They are characterized by transient behavioral changes that are caused by abnormal and excessive neuronal synchronization in the brain. These episodes can be triggered by genetic or acquired factors that alter normal brain function such as autoimmune diseases, genetic mutations, encephalopathies, head trauma, cerebrovascular accidents, febrile seizures or *status epilepticus*. Temporal lobe epilepsy is a serious neurological disorder, which represents 60% to 70% of drug-resistant epilepsy, and is an important form of epilepsy acquired by any of the factors mentioned. Seizures can generate recurrent cycles of excitotoxicity and oxidative stress that cause neuronal damage and cell death. Oxidative stress is an imbalance between the endogenous antioxidant system and the overproduction of reactive oxygen species (ROS), consequently, oxidation of proteins, lipids and nucleic acids occurs in the brain, resulting in apoptosis, proteopathies, mitochondrial dysfunction, glial cell activation and neuroinflammation. ROS are responsible for the generation of oxidative stress and could be involved in neuronal damage that contributes to the establishment of epileptogenesis and spontaneous seizures in patients and experimental models. The administration of agents with antioxidant and anti-inflammatory properties could represent a therapeutic alternative aimed at reducing oxidative stress during epileptogenesis or seizures to reduce the severity of the pathological processes involved, and thus attenuate the neurobiological consequences that occur in temporal lobe epilepsy.

Keywords: Epilepsy, Antiepileptogenic treatments, Allopurinol, Ellagic acid and Oxidative stress.

Introducción

La epilepsia es un trastorno neurológico frecuente que afecta 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). Aproximadamente el 80% de las personas con epilepsia viven en países con un nivel socioeconómico medio y bajo en donde más del 75% de las personas con epilepsia activa no reciben tratamiento (Thijs *et al.*, 2019). Este desorden neurológico crónico es caracterizado por una predisposición a desarrollar crisis convulsivas y no convulsivas manifestando una actividad neuronal anormal (Fisher *et al.*, 2005). Las crisis convulsivas son episodios transitorios producidos por descargas excesivas neuronales (Brodie *et al.*, 2018). Están caracterizadas por cambios conductuales transitorios que son causados por una sincronización neuronal anormal y excesiva en el cerebro (Devinsky *et al.*, 2018; Fisher *et al.*, 2005). Estos episodios pueden desencadenarse por factores genéticos o adquiridos que alteran la función cerebral normal (Devinsky *et al.*, 2018; Yuen *et al.*, 2018). Las lesiones cerebrales como traumas, accidentes cerebrovasculares, infecciones virales, crisis febriles o status epilepticus (SE) pueden ocurrir en cualquier momento de la vida y son factores de riesgo para desarrollar la epilepsia (Yuen *et al.*, 2018). Las crisis se generan por modificaciones estructurales en las regiones que sufren una lesión precipitante (Pitkänen *et al.*, 2016), así como modificaciones funcionales, como la hiperexcitabilidad, el estrés oxidativo y la neuroinflamación que en su conjunto favorecen la pérdida neuronal, la gliosis reactiva, los brotes axonales, así como la reorganización sináptica patológica que contribuyen a la generación del epileptoma (Vezzani *et al.*, 2017). Estos cambios funcionales en su conjunto parecen representar una tríada patogénica que caracteriza de manera importante el proceso de epileptogénesis (Ambrogini *et al.*, 2019), induciendo una mayor susceptibilidad en la sincronización neuronal, así como alteraciones en la plasticidad generando un ambiente propenso a presentar crisis espontáneas y recurrentes (CER) (Devinsky *et al.*, 2018).

La tríada patogénica puede generar cambios graduales

en la homeostasis del Ca^{2+} intracelular, conduciendo al aumento de la excitabilidad y el daño neuronal, promoviendo de esta manera una mayor susceptibilidad a la generación de las crisis convulsivas (Yuen *et al.*, 2018). Los ciclos recurrentes de excitotoxicidad causan daño neuronal y muerte celular sustancial (Ambrogini *et al.*, 2019). El estrés oxidativo es un mecanismo de interés particular en el estudio de la epilepsia, ya que es uno de los mecanismos de la tríada patogénica que participa de manera importante en el establecimiento de las crisis convulsivas (Pearson-Smith y Patel 2017). El estrés oxidativo es el desequilibrio entre el sistema antioxidante endógeno y la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Guler *et al.*, 2016), que inducen la oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos en el cerebro, dando como resultado, apoptosis, proteopatías, disfunciones mitocondriales, activación de células gliales y neuroinflamación (Yusuf *et al.*, 2018). Se ha visto que la prevención del estrés oxidativo con antioxidantes puede ejercer efectos neuroprotectores y atenuar las crisis convulsivas (El-Missiry *et al.*, 2020).

El alcance de los medicamentos empleados a pacientes se limita a reducir los síntomas, minimizando las crisis convulsivas, sin embargo, no se han desarrollado medicamentos antiepileptogénicos que prevengan o reduzcan el establecimiento del síndrome epiléptico de forma directa. Además, se estima que hasta en un 30% de los pacientes, los medicamentos antiepilépticos son ineficaces (Pitkänen *et al.*, 2016; Vezzani *et al.*, 2017), de los cuales el 80% son pacientes con epilepsia del lóbulo temporal (ELT) (Liu *et al.*, 2017b). En las crisis epilépticas causadas por algún factor adquirido, se ven involucrados mecanismos celulares y moleculares que establecen procesos de muerte celular, estrés oxidativo y neuroinflamación, mismos que pueden reforzar la alteración funcional y estructural de las sinapsis involucradas en el desarrollo de la ELT (Keskin *et al.*, 2016). Debido a lo anterior, distintas investigaciones se han enfocado en ampliar el conocimiento sobre los procesos involucrados con este trastorno neurológico y las posibles terapias que prevengan el desarrollo de la epilepsia, lo que conlleva al estudio de alternativas terapéuticas que

mejoren significativamente el curso de la enfermedad al reducir la severidad de las crisis convulsivas, el daño neuronal continuo, los déficits cognitivos y las comorbilidades a largo plazo (Terrone *et al.*, 2020).

El estudio del uso de antioxidantes en la epilepsia ha tomado auge a razón de ser presentados como posibles coadyuvantes en el tratamiento de las crisis o como antiepileptogénicos, ya que podrían ser una buena opción para disminuir la progresión de los procesos fisiopatológicos, las crisis convulsivas y el deterioro cognitivo continuo en pacientes con epilepsia (Terrone *et al.*, 2020), así como una reducción en la administración de anticonvulsivos y sus efectos secundarios.

Epilepsia del lóbulo temporal

La ELT es el tipo de epilepsia focal más común, la cual afecta seriamente las capacidades cognitivas en las personas que lo padecen, manifestando alteraciones y pérdida de memoria e importantes déficits neuropsicológicos como depresión y ansiedad (Janz *et al.*, 2017). Se estima que cerca del 50% de las epilepsias son adquiridas (DeLorenzo *et al.*, 2005) y de ellas, la ELT es una forma importante de epilepsia adquirida (Williams *et al.*, 2009), ya que generalmente es precedida por una lesión cerebral inicial. Es el tipo de epilepsia refractaria más frecuente ya que representa entre el 60 y 70% de las epilepsias farmacorresistentes (Burtscher y Schwarzer, 2017). Es precedida por una lesión cerebral inicial causada por traumatismos craneoencefálicos, accidentes cerebrovasculares, hipoxia, malformaciones, crisis febriles complejas, infecciones y episodios de SE (Rowley & Patel 2013; Pauletti *et al.*, 2017). La neuroinflamación y ROS se inducen rápidamente en el cerebro después de lesiones cerebrales agudas que se asocian con un mayor riesgo de epilepsia en humanos y modelos experimentales (Terrone *et al.*, 2020).

En la ELT adquirida se distinguen tres periodos característicos: un periodo agudo que se caracteriza por la inducción de daño cerebral inicial que puede llevar a la epilepsia a partir de la muerte neuronal generada por la lesión (Curia *et al.*, 2014); un periodo silente o latente, donde se llevan a cabo diferentes alteraciones estructurales, funcionales y

metabólicas precedidas por el daño inicial y que son progresivas, llamadas en conjunto como epileptogénesis (DeLorenzo *et al.*, 2005; (Williams *et al.*, 2009). Durante la epileptogénesis se genera excitotoxicidad neuronal recurrente y estrés oxidativo que inducen la reorganización neuronal, procesos de neuroinflamación y cambios en las propiedades intrínsecas eléctricas de las neuronas hasta generar CER, a este periodo se le conoce como el periodo crónico (Lee *et al.*, 2017).

Respecto a la epidemiología de la ELT, actualmente no se cuenta con datos precisos ya que la mayoría de los estudios se han hecho con poblaciones de centros de referencia de cirugía en epilepsia por lo que existe un sesgo en los estimados de incidencia y prevalencia (Gómez & Chang, 2017; Téllez-Zenteno & Hernández-Ronquillo, 2012). Los datos más completos al respecto son de los 60s, en donde se estudiaron los marcadores epidemiológicos de la epilepsia en la comunidad de Rochester en Minnesota, EUA., donde encontraron una prevalencia de 1.7 casos por cada 1,000 personas, con una tasa de epilepsia en la población total de 6.2 casos por cada 1,000 personas (Hauser & Kurland, 1975; Téllez-Zenteno & Hernández-Ronquillo, 2012).

Dentro de la ELT hay fenómenos comunes que la caracterizan, como: la localización del foco epiléptico en el sistema límbico (particularmente en hipocampo, amígdala y corteza entorrinal), una lesión inicial precipitante (periodo agudo), un intervalo sin crisis subsiguiente (periodo latente) donde se generan las reacciones adaptativas estructurales como cambios en la neurogénesis, reorganización de los circuitos, gliosis, pérdida de la integridad de la barrera hematoencefálica, estrés oxidativo, neuroinflamación y presencia de esclerosis hipocampal (Curia *et al.*, 2008). La esclerosis hipocampal es la anomalía histológica más común en ELT, y sus principales características son la pérdida de neuronas principales e interneuronas y CER (periodo crónico) (Curia *et al.*, 2014).

Modelo crónico de epilepsia por pilocarpina

Existen modelos experimentales que mimetizan los cambios que ocurren en pacientes epilépticos, como los de estimulación eléctrica, genéticos y

farmacológicos, que desarrollan las mismas características fisiopatológicas y conductuales observadas en los pacientes (Juvale & Has, 2020). Dentro de los modelos adquiridos se encuentran los que utilizan quimio-convulsivos, los de lesión cerebral traumática y los de estimulación eléctrica repetida (kindling) (Becker, 2018). En los modelos farmacológicos se induce un SE como generador de daño neuronal inicial y clásicamente como modelo de ELT se administra ácido kaínico o pilocarpina (Curia *et al.*, 2014). La pilocarpina es un fármaco de origen alcaloide con efectos sobre el sistema nervioso ya que es un potente agonista acetilcolinérgico y ampliamente usado en el desarrollo de modelos de ELT. Tiene efectos sobre los receptores muscarínicos tipo 1 (M1) y 2 (M2), promoviendo la liberación del Ca^{2+} almacenado en el retículo endoplásmico liso, lo que origina la liberación prolongada de neurotransmisores excitadores al espacio sináptico provocando hiperexcitabilidad neuronal y ciclos continuos de excitotoxicidad mediado por los receptores NMDA (Curia *et al.*, 2008), que inducen la muerte celular a nivel de la formación hipocampal debido a la susceptibilidad de las células de CA1, CA3 y giro dentado (Trinka *et al.*, 2015); seguida por la aparición de CER. Además, el aumento en el flujo de Ca^{2+} intracelular mediado por los receptores NMDA, genera una mayor actividad de la NADPH oxidasa (NOX) y un subsecuente aumento de estrés oxidativo debido a una producción elevada de $O_2^{\cdot -}$ mediado por NOX (Di Maio *et al.*, 2011). De manera independiente al mecanismo de NOX, la producción de IP3 mediada por los receptores M1 resulta en la fosforilación de las cinasas reguladas por señales extracelulares 1 y 2 (ERK1/2); en conjunto, el estrés oxidativo generado por NOX y la fosforilación de ERK1/2 resultan en un aumento temprano en la expresión de las subunidades NR1 y NR2B de los receptores NMDA, lo cual puede estar involucrado en la inducción y mantenimiento de la epileptogénesis (Di Maio *et al.*, 2011). El modelo de epilepsia por pilocarpina fue desarrollado por Turski (1983), se caracteriza por inducir rápidamente el SE a partir de la administración sistémica o intracerebral de pilocarpina. Después del SE, los animales presentan conductas normalizadas por periodos que van desde semanas a meses y posteriormente CER

asociadas a alteraciones tisulares similares a las observadas en pacientes con ELT, tales como los brotes de las fibras musgosas, la reorganización celular, la pérdida de interneuronas y la proliferación de células granulares en las regiones hipocampales y parahipocampales, independientemente de la vía de administración de la pilocarpina (Curia *et al.*, 2008). Otros autores como Kudin *et al.*, (2002) han mostrado que este modelo presenta una declinación selectiva en la función de los complejos enzimáticos NADH-CoQ oxidoreductasa (complejo I) y de la citocromo C oxidasa (complejo IV) de la cadena respiratoria mitocondrial, lo que conlleva a dañar el DNA mitocondrial por el estrés oxidativo que se produce, estableciendo una regulación negativa en la producción enzimática, favoreciendo la disfunción y posterior muerte neuronal en las regiones de CA1 y CA3 del hipocampo, que son características en este modelo.

Debido a su mecanismo de acción, el modelo de pilocarpina es uno de los que más se asemeja a la ELT ya que imita las 3 etapas principales de la ELT. Molecularmente, el daño generado por el SE activa diversas vías de señalización que resultan en apoptosis por excitotoxicidad, neuroinflamación y activación glial, así como también en modificaciones post-traduccionales de proteínas sinápticas y transcripción de genes para proteínas estructurales (Reddy y Kuruba, 2013). Algunos de los procesos que se ven alterados durante la epileptogénesis en el periodo latente son la disminución en el metabolismo de la glucosa, cambios en la neurogénesis, espinas dendríticas (Heysieattalab & Sadeghi, 2021), esparcimiento de las fibras musgosas (Reddy y Kuruba, 2013), estrés oxidativo, daño mitocondrial (Waldbaum & Patel, 2010), neuroinflamación (Terrone *et al.*, 2020) entre otros.

El periodo latente termina con el inicio de las CER y dando inicio al periodo crónico (Curia *et al.*, 2008). Una característica de las CER es que aparecen en grupos de descargas, seguidos de periodos libres de crisis, en un ciclo en donde el punto más alto de las CER se da cada 5 a 8 días, sin embargo, la frecuencia de las crisis puede variar desde una al mes hasta varias al día (Goffin *et al.*, 2007). Durante este período continúan los procesos de daño representados por la tríada patogénica, haciendo que el proceso sea cíclico,

continuo, progresivo y degenerativo (Reddy & Kuruba, 2013; Ambrogini *et al.*, 2019).

Estrés oxidativo y neuroinflamación en la epilepsia

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre el sistema endógeno antioxidante y la sobreproducción de ROS (Keskin *et al.*, 2016), en consecuencia, se produce la oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos en el cerebro, dando como resultado apoptosis, proteopatías, disfunción mitocondrial, activación de células gliales y neuroinflamación (Yusuf *et al.*, 2018). Después del establecimiento de los cambios estructurales y funcionales en la epileptogénesis, inicia el periodo crónico con la generación de CER donde la sobreproducción de ROS está continuamente presente, aumentando la concentración intracelular de Ca^{2+} , promoviendo la liberación de neurotransmisores que facilitan la hiperexcitabilidad, la excitotoxicidad y la muerte neuronal por necrosis o apoptosis, procesos que pueden retroalimentarse positivamente generando daño tisular progresivo e irreversible (Waldbaum & Patel, 2010), debido a las características particulares de las neuronas que las vuelven especialmente susceptibles a los efectos perjudiciales de las ROS, una de ellas es la alta actividad metabólica con un gran consumo de oxígeno, debido a que las células nerviosas cuentan con un gran número de mitocondrias y una amplia superficie de membrana celular (Martinc *et al.*, 2012). En este sentido varios autores, refieren que el daño oxidativo y la consecuente muerte celular son considerados la causa y consecuencia de las crisis epilépticas (Patel, 2004). Uno de los organelos más afectados por las crisis epilépticas y la generación de ROS son las mitocondrias, ya que son susceptibles al daño oxidativo, especialmente el DNA mitocondrial (mtDNA), y esto puede llevar a una menor actividad en la cadena transportadora de electrones (Rowley & Patel, 2013).

Durante una crisis epiléptica o un evento de SE se pueden generar ciclos recurrentes de estrés oxidativo que promueven el incremento intracelular de Ca^{2+} mediado por los receptores NMDA, que resulta en la activación de vías de señalización que llevan al daño mitocondrial e incremento de ROS (Puttachary *et al.*, 2015) por la

NOX y la xantina oxidasa (XO) (Kovac *et al.*, 2014). La disfunción mitocondrial causada por el daño al mtDNA inducido por ROS es uno de los principales factores en la muerte neuronal (Puttachary *et al.*, 2015; Rowley & Patel, 2013) (Fig. 1). La sobrecarga de Ca^{2+} desencadena la apertura de los poros de transición de permeabilidad mitocondrial, que está vinculada a la apoptosis a través de la vía mitocondrial o necrosis debido al daño mitocondrial (Martinic *et al.*, 2012). Se ha observado en un modelo de SE con la administración de ácido kaínico que tras la disfunción mitocondrial hay un aumento en la translocación de mitocondria al citoplasma de citocromo C y un aumento de caspasa 3 activada en la región de CA3 del hipocampo, presentando apoptosis en esta región (Chuang *et al.*, 2007).

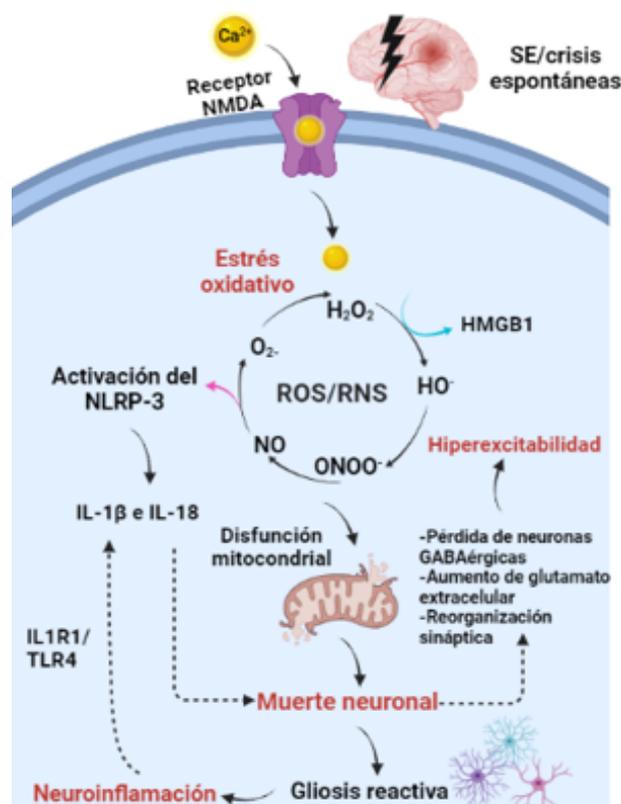


Figura 1. Representación esquemática de la participación del estrés oxidativo, la neuroinflamación y la hiperexcitabilidad neuronal en la epilepsia.

La actividad de NOX y XO, la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) también tiene un papel relevante en la producción de especies reactivas de nitrógeno (RNS) ya que genera una sobreproducción de óxido nítrico (NO) que resulta también en disfunción mitocondrial (Chuang *et al.*, 2007). También se ha observado que hay una alta

correlación entre la actividad epileptiforme y cambios en el potencial de la membrana y Ca^{2+} mitocondrial, resultando en una disminución en la formación de ATP, favoreciendo la formación de ROS mitocondrial (Kovács *et al.*, 2005). Una forma de generación de ROS mitocondrial es mediante la acumulación de electrones en la cadena transportadora de electrones durante los periodos ictales, que posteriormente llevan a la reducción de O^2 en O^{2-} y H_2O^2 (Fig. 1) (Rowley & Patel, 2013). Adicionalmente, en el proceso de epileptogénesis se dan cambios en la fisiología de la glía que también resultan en una mayor excitabilidad, neuroinflamación y estrés oxidativo. Al igual que durante un daño cerebral, la hiperexcitabilidad ocasiona gliosis, que se caracteriza por proliferación e hipertrofia de las células gliales (Puttachary *et al.*, 2015). En este proceso la glía reactiva libera diversas moléculas como citocinas o factores de crecimiento con el fin de mitigar el daño, sin embargo, la gliosis prolongada puede causar neuroinflamación y muerte neuronal (Patel *et al.*, 2019) (Fig. 1).

En el caso de la microglía, una vez activada puede oscilar entre dos fenotipos (M1 y M2); siendo la M1 la que promueve la inflamación crónica, estrés oxidativo, fagocitosis y neurodegeneración (Therajaran *et al.*, 2020). Se ha visto mediante citometría de flujo y RT-PCR en el modelo de ácido kaínico que en el periodo agudo (3 días post-SE) y en el periodo crónico (5-12 meses post-SE) se ven elevados algunos marcadores de la microglía M1 como $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ y CD11b (Benson *et al.*, 2015). La microglía también tiene un papel importante en la regulación de la neurogénesis, por lo que en epilepsia este proceso se puede ver desregulado, llevando a la formación de conexiones aberrantes que pueden facilitar las CER (Puttachary *et al.*, 2015; Victor & Tsirka, 2020).

Por otro lado, los astrocitos reactivos presentan hipertrofia, aumento en la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), cambios morfológicos, proliferación, y formación de una costra glial en la barrera hematoencefálica asociada a ELT (Barker-Haliski & White, 2015; Devinsky *et al.*, 2013). En condiciones fisiológicas los astrocitos tienen un papel en la neurotransmisión al envolver las sinapsis con procesos que contienen

transportadores para la recaptación de neurotransmisores (Barker-Haliski & White, 2015). Por lo que en condiciones normales los astrocitos captan el glutamato extracelular y lo degradan a glutamina; sin embargo, en el tejido epiléptico hay una desregulación que lleva a la acumulación de glutamato en los astrocitos y a un defecto en el ciclo de degradación provocando hiperexcitabilidad (Puttachary *et al.*, 2015). Adicionalmente, los astrocitos también tienen un papel en la función de la barrera hematoencefálica, y en la epilepsia pueden afectar su permeabilidad al liberar citocinas o factores de crecimiento como el vascular endotelial que dañan las uniones estrechas de la barrera hematoencefálica y facilitan la extravasación de células y moléculas sanguíneas hacia el sistema nervioso central (Devinsky *et al.*, 2013).

Una vía de señalización importante en la neuroinflamación es el eje IL-1R1/TLR4 . El IL-1R1 es el receptor a interleucina 1 (Boraschi *et al.*, 2018); el receptor tipo Toll 4 (TLR4) es un receptor perteneciente a la familia de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), pero que también tiene ligandos endógenos como la proteína de alta movilidad del grupo 1 (HMGB1) y se encuentran expresados en las células principales del sistema nervioso central (Leitner *et al.*, 2019). HMGB1 es una proteína nuclear no histónica que bajo condiciones de estrés (especialmente estrés oxidativo) sufre una translocación del núcleo al citoplasma promoviendo la estabilización y progresión del estrés oxidativo, haciéndolo cíclico (Yu *et al.*, 2015).

Cuando son activados, las vías de señalización de los receptores IL-1R1 y TLR4 resultan en la activación del factor nuclear kappa B ($\text{NF-}\kappa\text{B}$), el cual perpetúa la inflamación mediante la transcripción de genes pro-inflamatorios (Vezzani *et al.*, 2011) como $\text{IL-1}\beta$, IL-18 , IL-2 , IL-6 , IL-8 , $\text{TNF-}\alpha$ y ciclooxigenasa 2 (COX-2) (Liu *et al.*, 2017a).

Otro componente importante en el eje IL-1R1/TLR4 es la activación del inflammasoma NLRP-3 . El cual es un PRR que también está bajo el control transcripcional de $\text{NF-}\kappa\text{B}$ y media un tipo de muerte celular denominado piroptosis (Guo *et al.*, 2015). El

NLRP-3 requiere de dos señales de daño para su activación, siendo la primera señal una que active NF- κ B, elevando la expresión de NLRP-3 (Bauernfeind *et al.*, 2009), y la segunda señal puede ser ATP extracelular, ácidos nucleicos, K⁺ o estrés oxidativo (Guo *et al.*, 2015). Una vez activado, NLRP-3 madura a la caspasa-1, la que a su vez madura las interleucinas IL-1 β e IL-18, implicadas fuertemente con los procesos de hiperexcitabilidad y piroptosis (Guo *et al.*, 2015). NLRP-3 también facilita la liberación de HMGB1 al espacio extracelular (van Vilet *et al.*, 2017). Llevando así a un ciclo de retroalimentación positiva donde la IL-1 β y HMGB1 liberadas en la piroptosis pueden volver a activar el eje IL-1R1/TLR4 en otras células (Shi *et al.*, 2015). Recientemente se ha observado que en tejido hipocampal humano de pacientes con ELT se encuentra una mayor expresión de NLRP-1, NLRP-3, caspasa 1 e IL-1 β , tanto en neuronas como en glía (de Brito Toscano *et al.*, 2021).

Agentes antioxidantes con propiedades anticonvulsivas en el estudio de la epilepsia del lóbulo temporal

En los últimos años se han estudiado diferentes alternativas terapéuticas para tratar la epilepsia, un gran porcentaje de pacientes epilépticos son refractarios a las opciones de tratamiento disponibles. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevas terapias para prevenir el desarrollo de la epilepsia o para modificar favorablemente el curso de la enfermedad. Se requiere una mejor comprensión de los mecanismos clave subyacentes a esta enfermedad e identificar nuevos objetivos potenciales para terapias novedosas y más eficientes. La base del tratamiento de la epilepsia es el uso de fármacos antiepilépticos (AEDs por sus siglas en inglés) (Stafstrom, 2010), en donde existen alrededor de 30 AEDs aprobados actualmente en uso (Löscher *et al.*, 2020). Dentro de los principales mecanismos de acción de los AEDs se encuentra, la modulación de los canales de Na⁺, el aumento de la inhibición por GABA, la atenuación de la neurotransmisión excitatoria, entre otros (Löscher *et al.*, 2020; Sankaraneni & Lachhwani, 2015). Cabe resaltar que a pesar de la variedad de AEDs, la prevalencia

de la epilepsia farmacorresistente no disminuye, ya que los tratamientos convencionales únicamente tienen su efecto sobre los síntomas de las crisis sin frenar el proceso de epileptogénesis (Sankaraneni & Lachhwani, 2015). Por otra parte, la cirugía de resección anteromesial temporal es el procedimiento quirúrgico más común para tratar la ELT (Engel, 2001).

El desarrollo de tratamientos para combatir la epileptogénesis sigue siendo una necesidad médica importante. Es por ello que el uso de antioxidantes en la terapia anticonvulsiva actual podría brindar un efecto benéfico adicional (Lin *et al.*, 2020) al actuar directamente sobre factores importantes en la epileptogénesis como la neuroinflamación y el estrés oxidativo, brindando así efectos modificadores del curso de la enfermedad (Terrone *et al.*, 2020).

La evidencia reportada en modelos animales indica que las ROS, el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial están implicados en la patogénesis de varias enfermedades neurológicas, incluida la epilepsia en humanos y modelos animales (Folbergrová *et al.*, 2018). Estudios en modelos animales y celulares, así como los estudios clínicos, sugieren que la administración de antioxidantes brinda beneficios protectores contra el daño oxidativo para la atenuación de la degeneración neuronal (Keskin *et al.*, 2016). Es por eso que los antioxidantes se usan con el objetivo de reducir el estrés oxidativo y sus consecuencias. Entre las fuentes habituales de antioxidantes en la dieta se encuentran los frutos rojos y bayas, estos son ricos en compuestos fenólicos, principalmente flavonoides, los cuales se caracterizan por su actividad anticarcinogénica, antiinflamatoria, antiaterogénica, antimicrobiana y antioxidante (Chen *et al.*, 2018). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático. Los compuestos fenólicos poseen además una estructura química ideal para captar iones metálicos (principalmente hierro y cobre) y por tanto para inhibir la formación de radicales libres a través de reacciones de Fenton (Valko *et al.*, 2007).

A la fecha son pocos los estudios realizados sobre

la administración de antioxidantes en el tratamiento de la epilepsia, por lo que aún no se han determinado si existen efectos secundarios. Sin embargo, la evaluación de antioxidantes en modelos de pentilentetrazol (PTZ), pilocarpina y ácido kaínico durante la epileptogénesis y durante las CER han demostrado su efectividad en la disminución de la severidad de la conducta convulsiva, la actividad epileptiforme, la muerte neuronal, el estrés oxidativo y diversos marcadores neuroinflamatorios, lo que los convierte en una opción terapéutica prometedora (Mendez-Armenta *et al.*, 2014; González-Reyes *et al.*, 2016; Khodabandeh *et al.*, 2017; Clossen & Reddy 2017; Rabiei 2017; El-Missiry *et al.*, 2020).

Se han estudiado diversas moléculas antioxidantes, así como sus efectos sobre la neuroinflamación y el estrés oxidativo en la epilepsia. Moléculas como las vitaminas C y E, el glutatión (GSH), la coenzima Q10, el ácido lipoico y la melatonina, han demostrado tener un papel importante para contrarrestar el estrés oxidativo (Cárdenas-Rodríguez *et al.*, 2013).

Se sabe que, la naringenina en el modelo de ELT por pilocarpina, disminuye la formación de ROS, la severidad de las crisis y restablece los niveles de enzimas antioxidantes endógenas (Shakeel *et al.*, 2017), el ácido ascórbico también en este modelo retrasa el inicio de las crisis y disminuye la mortalidad (Xavier *et al.*, 2007); el RTA 408 activa el factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) mediante la inhibición de la proteína 1 asociada a ECH tipo kelch (KEAP), resultando en un aumento de la capacidad antioxidante endógena con lo que disminuyen la frecuencia de las CER y ROS en un modelo de ácido kaínico (Shekh-Ahmad, *et al.*, 2018). El resveratrol es un polifenólico natural presente en el vino tinto con efectos neuroprotectores, en varios modelos de trastornos neurológicos en animales adultos, incluida la epilepsia. El tratamiento con revesterol administrado una hora después de la inducción de SE inducido por ácido kaínico en animales adultos proporcionó un efecto neuroprotector sustancial con respecto a la neurodegeneración, la neurogénesis anormal, la supresión del estrés oxidativo y la inflamación (Folbergrová *et al.*, 2018). La glicirricina es una saponina triterpénica que confiere neuroprotección a través de efectos

antiinflamatorios en un modelo de muerte neuronal inducido por ácido kaínico (Luo *et al.*, 2013; González-Reyes *et al.*, 2016). Además, la glicirricina tiene efectos neuroprotectores en el cerebro que podrían atribuirse a la inhibición de la HMGB1, que mitiga el proceso neuroinflamatorio y disminuye el estrés oxidativo (Luo *et al.*, 2014; González *et al.*, 2016). Por otra parte, De Freitas (2009) demostró que el ácido lipoico, tiene propiedades antioxidantes ya que reduce el metabolismo oxidativo cerebral, además reportó que los efectos de los compuestos antioxidantes en el modelo de pilocarpina, disminuyeron los niveles de nitrito en el hipocampo de las ratas.

El alopurinol es un inhibidor selectivo de la XO, capaz de disminuir la formación de RO. En un modelo felino de kindling en el hipocampo, se encontró que la administración de alopurinol disminuyó la conducta convulsiva y la duración de los periodos post-descargas (Wada *et al.*, 1992). Adicionalmente, se han llevado a cabo ensayos clínicos en donde a pacientes con epilepsia se les trató con algún fármaco antiepiléptico tradicional en conjunto con el alopurinol, observando una disminución en el número total de crisis (Togha *et al.*, 2007) así como en la frecuencia de las mismas (De Marco & Zagnoni, 1988). Tada *et al.*, (1991) observaron que el alopurinol era más efectivo en pacientes con epilepsia focal, especialmente en crisis tónico-clónicas secundarias generalizadas (Tada *et al.*, 1991). Por otra parte, en un ensayo clínico placebo-controlado, aleatorizado y doble ciego, encontraron una disminución en el total de crisis (10.5%), especialmente de las crisis secundarias generalizadas (27.9%) con la administración de alopurinol en conjunto con el fármaco anticonvulsivo previamente recetado (Zagnoni *et al.*, 1994).

El ácido elágico, es un polifenol que está presente en las nueces, semillas y frutos de diversas plantas (Alfei *et al.*, 2019), es uno de los antioxidantes que han demostrado tener efectos neuroprotectores y antiinflamatorios importantes en diversos modelos experimentales de ELT y daño cerebral (Pardo-Peña *et al.*, 2022; Zeb, 2018). El efecto del ácido elágico tiene un doble papel: por una parte, funciona como modulador redox al contrarrestar los radicales libres, y por otra parte es capaz de modular la fisiología celular mediante diferentes

vías de señalización celular de las que destaca la de NF-kB (Vattem & Shetty, 2005). Además, se ha visto que el ácido elálgico también interactúa con Nrf2 aumentando su expresión (Baluchnejadmojarad *et al.*, 2017; Ebrahimi *et al.*, 2019; Hseu *et al.*, 2012). Tomando en cuenta que Nrf2 es el principal regulador de la expresión de diversas proteínas antioxidantes y citoprotectoras en respuesta a estrés oxidativo (Li *et al.*, 2019), estando bajo su regulación la expresión de la hemo-oxigenasa 1 (HO-1), la superóxido dismutasa (SOD) y las enzimas encargadas de la síntesis de GSH como la glutatión sintetasa, entre otras (Copple *et al.*, 2008).

Particularmente en epilepsia se ha observado que el ácido elálgico incrementa los niveles de GABA y disminuye la actividad convulsiva (Dhingra & Jangra, 2014). Por lo que el estudio de alternativas terapéuticas antioxidantes para disminuir la severidad de la epileptogénesis, está documentado en tanto en epilepsia experimental como en pacientes, estableciendo así una importante relación entre el estrés oxidativo y la epilepsia.

Conclusión

Algunos antioxidantes se han convertido en una alternativa de estudio en la epilepsia por sus propiedades anticonvulsivas y neuroprotectoras al mostrar efectos en la disminución de la conducta convulsiva, la actividad epileptiforme y la modificación de algunos marcadores de estrés oxidativo y neuroinflamación durante la epileptogénesis o las CER, efectos que pueden representar una buena alternativa para mitigar o disminuir el daño oxidativo como estrategia terapéutica contra procesos epileptogénicos posteriores a un daño neuronal.

Literatura citada

- Alfei, S., Turrini, F., Catena, S., Zunin, P., Grilli, M., Pittaluga, A. M., & Boggia, R. (2019). Ellagic acid a multi-target bioactive compound for drug discovery in CNS? A narrative review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, (183), 111724. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111724>
- 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>
- Baluchnejadmojarad, T., Rabiee, N., Zabihnejad, S., & Roghani, M. (2017). Ellagic acid exerts protective effect in intrastriatal 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease: Possible involvement of ER β /Nrf2/HO-1 signaling. *Brain Research*, 1662, 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.02.021>
- Barker-Haliski, M., & White, H. S. (2015). Glutamatergic mechanisms associated with seizures and epilepsy. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(8), a022863. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022863>
- 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). Animal models of acquired epilepsy: insights into mechanics of human epileptogenesis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 44(1), 112-129. <https://doi.org/10.1111/nan.12451>
- Benson, M. J., Manzanero, S., & Borges, K. (2015). Complex alterations in microglial M1/M2 markers during the development of epilepsy in two mouse models. *Epilepsia*, 56(6), 895-905. <https://doi.org/10.1111/epi.12960>
- Boraschi, D., Italiani, P., Weil, S., & Martin, M. U. (2018). The family of the interleukin-1 receptors. *Immunological Reviews*, 281(1), 197-232. <https://doi.org/10.1111/imr.12606>
- Brodie, M. J., Zuberi, S. M., Scheffer, I. E., & Fisher, R. S. (2018). The 2017 ILAE classification of seizure types and the epilepsies: what do people with epilepsy and their caregivers need to know?. *Epileptic Disorders*, 20(2), 77-87. <https://doi.org/10.1684/epd.2018.0957>
- Burtscher, J. & Schwarzer, C. (2017). The Opioid System in Temporal Lobe Epilepsy: Functional Role and Therapeutic Potential. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 245. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00245>
- Cardenas-Rodriguez, N., Huerta-Gertrudis, B., Rivera-Espinosa, L., Montesinos-Correa, H., Carmona-Aparicio, L., y Coballase-Urrutia, E. (2013). Role of oxidative stress in refractory epilepsy: evidence in patients and experimental models. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 1455-1476. <https://doi.org/10.3390/ijms14011455>
- Chen, P., Chen, F. & Zhou, B. (2018). Antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of ellagic acid in liver and brain of rats treated by D-galactose. *Scientific Reports*, 8, 1465. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19732-0>
- Chuang, Y. C., Chen, S. D., Lin, T. K., Liou, C. W., Chang, W. N., Chan, S. H. H., & Chang, A. Y. W. (2007). Upregulation of nitric oxide synthase II contributes to apoptotic cell death in the hippocampal CA3 subfield via a cytochrome c/caspase-3 signaling cascade following induction of experimental temporal lobe status epilepticus in the rat. *Neuropharmacology*, 52(5), 1263-1273. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.01.010>
- Clossen B. L. & Reddy D. S. (2017) Novel therapeutic approaches for disease-modification of epileptogenesis for curing epilepsy. *Biochimica et Biophysica Acta*

- (BBA) - Molecular Basis of Disease, 1863, 1519-1538.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.02.003>
- Copple, I. M., Goldring, C. E., Kitteringham, N. R., & Park, B. K. (2008). The Nrf2-Keap1 defence pathway: Role in protection against drug-induced toxicity. *Toxicology*, 246(1), 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.10.029>
- Curia, G., Longo, D., Biagini, G., Jones, R. S. G., & Avoli, M. (2008). The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience Methods*, 172(2), 143-157. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.04.019>
- Curia, G., Lucchi, C., Vinet, J., Gualtieri, F., Marinelli, C., Torsello, A., Costantino, L., & Biagini, G. (2014). Pathophysiological of Mesial Temporal Lobe Epilepsy: Is Prevention of Damage Antiepileptogenic? *Current Medicinal Chemistry*, 21(6), 663-688. <https://doi.org/10.2174/0929867320666131119152201>
- de Brito Toscano, E. C., Vieira, É. L. M., Dias, B. B. R., Caliar, 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>
- DeLorenzo, R. J., Sun, D. A., & Deshpande, L. S. (2005). Cellular mechanisms underlying acquired epilepsy: The calcium hypothesis of the induction and maintenance of epilepsy. *Pharmacology and Therapeutics*, 105(3), 229-266. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2004.10.004>
- De Marco, P., & Zagnoni, P. (1988). Allopurinol in Severe Epilepsy. *Neuropsychobiology*, 19(1), 51-53. <https://doi.org/10.1159/000118433>
- Devinsky, O., Vezzani, A., Najjar, S., De Lanerolle, N. C., & Rogawski, M. A. (2013). Glia and epilepsy: Excitability and inflammation. *Trends in Neurosciences*, 36(3), 174-184. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.11.008>
- 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>
- Dhingra, D., & Jangra, A. (2014). Antiepileptic activity of ellagic acid, a naturally occurring polyphenolic compound, in mice. *Journal of Functional Foods*, 10, 364-369. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.011>
- Di Maio, R., Mastroberardino, P. G., Hu, X., Montero, L., & Greenamyre, J. T. (2011). Pilocarpine alters NMDA receptor expression and function in hippocampal neurons: NADPH oxidase and ERK1/2 mechanisms. *Neurobiology of Disease*, 42(3), 482-495. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.02.012>
- Ebrahimi, R., Sepand, M. R., Seyednejad, S. A., Omidi, A., Akbariani, M., Gholami, M., & Sabzevari, O. (2019). Ellagic acid reduces methotrexate-induced apoptosis and mitochondrial dysfunction via up-regulating Nrf2 expression and inhibiting the I κ B α /NF κ B in rats. *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(2), 721-733. <https://doi.org/10.1007/s40199-019-00309-9>
- El-Missiry, M. A., Othman, A. I., Amer, M. A., Sedki, M., Ali, S. M., & El-Sherbiny, I. M. (2020). Nanoformulated ellagic acid ameliorates pentylentetrazol-induced experimental epileptic seizures by modulating oxidative stress, inflammatory cytokines and apoptosis in the brains of male mice. *Metabolic Brain Disease*, 35(2), 385-399. <https://doi.org/10.1007/s11011-019-00502-4>
- Engel J., J. (2001). Mesial temporal lobe epilepsy: What have we learned?. *Neuroscientist*, 7(4), 340-352. <https://doi.org/10.1177/107385840100700410>
- Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470-472. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x>
- Folbergrová, J., Ješina, P., Kubová, H. & Otáhal, J. (2018). Effect of Resveratrol on Oxidative

- Stress and Mitochondrial Dysfunction in Immature Brain during Epileptogenesis. *Molecular Neurobiology*, 55, 7512-7522. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0924-0>
- Goffin, K., Nissinen, J., Van Laere, K., & Pitkänen, A. (2007). Cyclicality of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat. *Experimental Neurology*, 205(2), 501-505. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.03.008>
- González-Reyes S., Santillán-Cigales J. J., Jiménez-Osorio A. S., Pedraza-Chaverri J. & Guevara-Guzmán R. (2016). Glycyrrhizin ameliorates oxidative stress and inflammation in hippocampus and olfactory bulb in lithium/pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Epilepsy Research*, 126, 126-133. <https://doi.org/10.1016/j.eplespsyres.2016.07.007>
- Guler, S. K., Aytac, B., Durak, Z. E., Cokal, B. G., Gunes, N., Durak, I., & Yoldas, T. (2016). Antioxidative-oxidative balance in epilepsy patients on antiepileptic therapy: a prospective case-control study. *Neurological Sciences*, 37(5), 763-767. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2494-0>
- 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>
- Hauser, W. A., & Kurland, L. T. (1975). The Epidemiology of Epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 Through 1967. *Epilepsia*, 16(1), 1-66. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1975.tb04721.x>
- Heysiattalab, S., & Sadeghi, L. (2021). Dynamic structural neuroplasticity during and after epileptogenesis in a pilocarpine rat model of epilepsy. *Acta Epileptologica*, 3(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s42494-020-00037-7>
- Hseu, Y. C., Chou, C. W., Kumar, K. S., Fu, K. T., Wang, H. M., Hsu, L. S., Kuo, Y. H., Wu, C. R., Chen, S. C., & Yang, H. L. (2012). Ellagic acid protects human keratinocyte (HaCaT) cells against UVA-induced oxidative stress and apoptosis through the upregulation of the HO-1 and Nrf-2 antioxidant genes. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1245-1255. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.020>
- Janz, P., Schwaderlapp, N., Heining, K., Häussler, U., Korvink, J.G., von Elverfeldt, D., Hennig, J., Egert, U., LeVan, P., y Haas, C.A. (2017). Early tissue damage and microstructural reorganization predict disease severity in experimental epilepsy. *eLife*, pii25742, 1-26. <https://doi.org/10.7554/eLife.25742>
- Juvale, I. I. A., & Has, A. T. C. (2020). The evolution of the pilocarpine animal model of status epilepticus. *Heliyon*, 6(7), e04557. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04557>
- Keskin, G. S., Aytac, B., Durak, Z. E., Gokce, C. B., Gunes, N., Durak, I. & Yoldas, T. (2016). Antioxidative-oxidative balance in epilepsy patients on antiepileptic therapy: a prospective case-control study. *Neurological Sciences*, 37, 763-767. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2494-0>
- Khodabandeh H., Edalatmanesh M. A., Malekzadeh S. (2017). The Effects of Ellagic Acid on Hippocampal Cell Damage in Pentylentetrazole Induced Kindling Seizure Model. *Report of Health Care*, 3, 27-32.
- Kovac, S., Domijan, A. M., Walker, M. C., & Abramov, A. Y. (2014). Seizure activity results in calcium- and mitochondria- independent ros production via nadph and xanthine oxidase activation. *Cell Death and Disease*, 5(10), e1442. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.390>
- Kovács, R., Kardos, J., Heinemann, U., & Kann, O. (2005). Mitochondrial calcium ion and membrane potential transients follow the pattern of epileptiform discharges in hippocampal slice cultures. *Journal of Neuroscience*, 25(17), 4260-4269. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4000-04.2005>
- Kudin, A. P., Kudina, T. A., Seyfried, J., Vielhaber, S., Beck, H., Elger, C. E., y Kunz, W. S. (2002). Seizure-dependent modulation of mitochondrial oxidative phosphorylation in rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience*, 15, 1105-1114. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.01947.x>
- Lee, H., Jung, S., Lee, P., & Jeong, Y. (2017). Altered intrinsic functional connectivity in the latent period of epileptogenesis in a temporal lobe epilepsy model. *Experimental Neurology*, 296, 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.07.007>
- Li, R., Jia, Z., & Zhu, H. (2019). Regulation of Nrf2 signalling. *Reactive Oxygen Species*

- (Apex, NC), 8(24), 312-322.
- Lin, T. K., Chen, S. D., Lin, K. J., & Chuang, Y. C. (2020). Seizure-induced oxidative stress in status epilepticus: Is antioxidant beneficial? *Antioxidants*, 9(11), 1-24. <https://doi.org/10.3390/antiox9111029>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017a). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Liu, H. J., Lai, X., Xu, Y., Miao, J. K., Li, C., Liu, J. Y., Hua, Y. Y., Ma, Q. & Chen, Q. (2017b). α -Asarone Attenuates Cognitive Deficit in a Pilocarpine-Induced Status Epilepticus Rat Model via a Decrease in the Nuclear Factor- κ B Activation and Reduction in Microglia Neuroinflammation. *Frontiers in Neurology*, 8, 661. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00661>
- Luo, L., Jin, Y., Kim, I. D. & Lee, J. K. (2013). Glycyrrhizin attenuates kainic acid-induced neuronal cell death in the mouse hippocampus. *Experimental Neurobiology*, 22, 107-115. <https://doi.org/10.5607/en.2013.22.2.107>
- Luo, L., Jin, Y., Kim, I. D. & Lee, J. K. (2014). Glycyrrhizin suppresses HMGB1 inductions in the hippocampus and subsequent accumulation in serum of a kainic acid-induced seizure mouse model. *Cellular and Molecular Neurobiology* 34, 987-997. <https://doi.org/10.1007/s10571-014-0075-4>
- 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>
- Martinc, B., Grabnar, I., y Vovk, T. (2012). The role of reactive species in epileptogenesis and influence of antiepileptic drug therapy on oxidative stress. *Current Neuropharmacology*, 10, 328-343. <https://doi.org/10.2174/157015912804143504>
- Mendez-Armenta M., Nava-Ruiz C., Juarez-Rebollar D., Rodriguez- Martinez E., Gomez P. Y. (2014) Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 293689. <https://doi.org/10.1155/2014/293689>
- Pardo-Peña, K., Yañez-Hernández, A., Medina-Ceja, L., & Morales-Villagrán, A. (2022). Ellagic acid and allopurinol decrease H₂O₂ concentrations, epileptiform activity and astrogliosis after status epilepticus in the hippocampus of adult rats. *Experimental Brain Research*, 240(4), 1191-1203. <https://doi.org/10.1007/s00221-022-06323-9>
- Patel, M. (2004). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures. *Free Radical Biology and Medicine*, 37, 1951-1962. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.08.021>
- Patel, D. C., Tewari, B. P., Chaunsali, L., & Sontheimer, H. (2019). Neuron–glia interactions in the pathophysiology of epilepsy. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(5), 282-297. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0126-4>
- Pauletti, A., Terrone, G., Shekh-Ahmad, T., Salamone, A., Ravizza, T., Rizzi, M., Pastore, A., Pascente, R., Liang, L. P., Villa, B. R., Balosso, S., Abramov, A. Y., van Vliet, E.A., Del Giudice, E., Aronica, E., Antoine, D. J., Patel, M., Walker, M. C., y Vezzani, A. (2017). Targeting oxidative stress improves disease outcomes in a rat model of acquired epilepsy. *Brain*, 140, 1885-1899. <https://doi.org/10.1093/brain/awz130>
- Pearson-Smith, J. N., & Patel, M. (2017). Metabolic dysfunction and oxidative stress in epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 1-13. <https://doi.org/10.3390/ijms18112365>
- Pitkänen, A., Löscher, W., Vezzani, A., Becker, A. J., Simonato, M., Lukasiuk, K., Gröhn, O., Bankstahl, J. P., Friedman, A., Aronica, E., Gorter, J. A., Ravizza, T., Sisodiya, S. M., Kokaia, M., & 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)
- Puttachary, S., Sharma, S., Stark, S., & Thippeswamy, T. (2015). Seizure-induced

- oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *BioMed Research International*, 2015, 745613. <https://doi.org/10.1155/2015/745613>
- Rabiei Z. (2017) Anticonvulsant effects of medicinal plants with emphasis on mechanisms of action. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7, 166-172. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.11.028>
- Reddy, D. S., & Kuruba, R. (2013). Experimental models of status epilepticus and neuronal injury for evaluation of therapeutic interventions. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 18284-18318. <https://doi.org/10.3390/ijms140918284>
- Rowley, S., & Patel, M. (2013). Mitochondrial involvement and oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *Free Radical Biology and Medicine*, 62, 121-131. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.002>
- Sankaraneni, R., & Lachhwani, D. (2015). Antiepileptic drugs-a review. *Pediatric Annals*, 44(2), e36-e42. <https://doi.org/10.3928/00904481-20150203-10>
- Shakeel, S., Rehman, M. U., Tabassum, N., Amin, U., & Mir, M. (2017). Effect of naringenin (A naturally occurring flavanone) against pilocarpine-induced status epilepticus and oxidative stress in mice. *Pharmacognosy Magazine*, 13(49), S154-S160. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.203977>
- Shekh-Ahmad, T., Eckel, R., Dayalan Naidu, S., Higgins, M., Yamamoto, M., Dinkova-Kostova, A. T., Kovac, S., Abramov, A. Y., & Walker, M. C. (2018). KEAP1 inhibition is neuroprotective and suppresses the development of epilepsy. *Brain*, 141(5), 1390-1403. <https://doi.org/10.1093/brain/awy071>
- Shekh-Ahmad, T., Lieb, A., Kovac, S., Gola, L., Wigley, W. C., Abramov, A. Y., & Walker, M. C. (2019). Combination antioxidant therapy prevents epileptogenesis and modifies chronic epilepsy. *Redox biology*, 26, 101278. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101278>
- Shi, J., Zhao, Y., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Huang, H., Zhuang, Y., Cai, T., Wang, F., & Shao, F. (2015). Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 526(7575), 660-665. <https://doi.org/10.1038/nature15514>
- Stafstrom, C. E. (2010). Mechanisms of action of antiepileptic drugs: The search for synergy. *Current Opinion in Neurology*, 23(2), 157-163. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32833735b5>
- Tada, H., Morooka, K., Arimoto, K., & Matsuo, T. (1991). Clinical Effects of Allopurinol on Intractable Epilepsy. *Epilepsia*, 32(2), 279-283. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1991.tb05256.x>
- Téllez-Zenteno, J. F., & Hernández-Ronquillo, L. (2012). A Review of the Epidemiology of Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Research and Treatment*, 2012, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2012/630853>
- Terrone, G., Balosso, S., Pauletti, A., Ravizza, T., & Vezzani, A. (2020). Inflammation and reactive oxygen species as disease modifiers in epilepsy. *Neuropharmacology*, 167, 107742. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107742>
- Therajaran, P., Hamilton, J. A., O'Brien, T. J., Jones, N. C., & Ali, I. (2020). Microglial polarization in posttraumatic epilepsy: Potential mechanism and treatment opportunity. *Epilepsia*, 61(2), 203-215. <https://doi.org/10.1111/epi.16424>
- 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)
- Togha, M., Akhondzadeh, S., Motamedi, M., Ahmadi, B., & Razeghi, S. (2007). Allopurinol as Adjunctive Therapy in Intractable Epilepsy: A Double-blind and Placebo-controlled Trial. *Archives of Medical Research*, 38(3), 313-316. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2006.10.010>
- Trinkka, E., Cock, H., Hesdorffer, D., Rossetti, A. O., Scheffer, I. E., Shinnar, S., Shorvon, S., & Lowenstein, D. H. (2015). A definition and classification of status epilepticus - Report of the ILAE Task Force on Classification of Status Epilepticus. *Epilepsia*, 56(10), 1515-1523. <https://doi.org/10.1111/epi.13121>
- Turski, W. A., Cavalheiro, E. A., Schwarz, M., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z., & Turski, L.

- (1983a). Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: Behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behavioural Brain Research*, 9(3), 315-335. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(83\)90136-5](https://doi.org/10.1016/0166-4328(83)90136-5)
- Turski, W. A., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z., & Turski, L. (1983b). Cholinomimetics produce seizures and brain damage in rats. *Experientia*, 39(12), 1408-1411. <https://doi.org/10.1007/BF01990130>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- van Vilet, E., Aronica, E., Vezzani, A., & Ravizza, T. (2017). 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>
- Vatter, D. A., & Shetty, K. (2005). Biological functionality of ellagic acid: a review. *Journal of Food Biochemistry*, 29(3), 234-266. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2005.00031.x>
- Vezzani, A., Maroso, M., Balosso, S., Sanchez, M. A., & Bartfai, T. (2011). IL-1 receptor/Toll-like receptor signaling in infection, inflammation, stress and neurodegeneration couples hyperexcitability and seizures. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(7), 1281-1289. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.03.018>
- Vezzani, A., Pascente, R., Ravizza, T. (2017) Biomarkers of Epileptogenesis: The Focus on Glia and Cognitive Dysfunctions. *Neurochemical Research*, 42, 2089-2098. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2271-3>
- Victor, T. R., & Tsirka, S. E. (2020). Microglial contributions to aberrant neurogenesis and pathophysiology of epilepsy. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*, 7, 234. <https://doi.org/10.20517/2347-8659.2020.02>
- Wada, Y., Hasegawa, H., Nakamura, M., & Yamaguchi, N. (1992). Anticonvulsant effect of allopurinol on hippocampal-kindled seizures. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 42(4), 899-901. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90046-I](https://doi.org/10.1016/0091-3057(92)90046-I)
- Waldbaum, S., Liang, L. P., & Patel, M. (2010). Persistent impairment of mitochondrial and tissue redox status during lithium-pilocarpine-induced epileptogenesis. *Journal of Neurochemistry*, 115(5), 1172-1182. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07013.x>
- Williams, P. A., White, A. M., Clark, S., Ferraro, D. J., Swiercz, W., Staley, K. J., & Dudek, F. E. (2009). Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *Journal of Neuroscience*, 29(7), 2103-2112. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0980-08.2009>
- Xavier, S. M., Barbosa, C. O., Barros, D. O., Silva, R. F., Oliveira, A. A., & Freitas, R. M. (2007). Vitamin C antioxidant effects in hippocampus of adult Wistar rats after seizures and status epilepticus induced by pilocarpine. *Neuroscience Letters*, 420(1), 76-79. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.04.056>
- Yu, Y., Tang, D., & Kang, R. (2015). Oxidative stress-mediated HMGB1 biology. *Frontiers in Physiology*, 6, 93. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00093>
- Yuen, A. W. C., Keezer, M. R., & Sander, J. W. (2018). Epilepsy is a neurological and a systemic disorder. *Epilepsy and Behavior*, 78, 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.10.010>
- Yusuf, M., Khan, M., Robaian, M. A., & Khan, R. A. (2018). Biomechanistic insights into the roles of oxidative stress in generating complex neurological disorders. *Biological Chemistry*, 399(4), 305-319. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0250>
- Zagnoni, P. G., Bianchi, A., Zolo, P., Canger, R., Cornaggia, C., D'Alessandro, P., DeMarco, P., Pisani, F., Gianelli, M., Verzé, L., Viani, F., & Zaccara, G. (1994). Allopurinol as Add-on Therapy in Refractory Epilepsy: A Double-Blind Placebo-Controlled Randomized Study. *Epilepsia*, 35(1), 107-112. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1994.tb02919.x>
- Zeb, A. (2018). Ellagic acid in suppressing in vivo and in vitro oxidative stresses. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 448(1), 27-41. <https://doi.org/10.1007/s11010-018-3310-3>