

HMGB1 media la respuesta inflamatoria de la epileptogenicidad en la epilepsia relacionada con el complejo de esclerosis tuberosa

Science Progress
2025, vol. 108(2) 1–19 © El
autor(es) 2025 Pautas de
reutilización de artículos:
sagepub.com/journals-permissions DOI:
10.1177/00368504251338653
journals.sagepub.com/home/sci



Suhui Kuang^{1,2} , Tinghong Liu^{1,2} , Liu Yuan¹ ,
Jinshan Xu¹ , Yangshuo Wang¹ , Feng Chen¹
y Shuli Liang^{1,2}

Objetivo: Los

tubérculos epileptogénicos (TE) contribuyen a la epileptogénesis en pacientes con complejo de esclerosis tuberosa (CET). La proteína B-1 del grupo de alta movilidad (HMGB1) desencadena respuestas inflamatorias que afectan la actividad eléctrica neuronal. Nuestro objetivo fue estudiar el papel de la HMGB1 en la epileptogenicidad en la epilepsia relacionada con CET.

Métodos: Este estudio incluyó modelos humanos y animales. Los TE se identificaron mediante evaluaciones preoperatorias exhaustivas y los resultados de las convulsiones posoperatorias tras la tuberectomía. Se realizó inmunofluorescencia para evaluar el área positiva y la intensidad de fluorescencia de HMGB1 e IL-1 β en TE y no TE. Se establecieron ratones TSC2-GFAP-CKO y modelos epilépticos. Los ratones del grupo de prevención (día 14 posnatal) recibieron inyecciones diarias de anticuerpos monoclonales HMGB1 o IL-1 β durante 22 días. Los ratones del grupo de intervención (día 28 posnatal) recibieron tratamientos idénticos. Se realizaron análisis genéticos y proteómicos de HMGB1 e IL-1 β en ambos.

¹ Departamento de Neurocirugía Funcional, Centro Nacional de Salud Infantil de China, Hospital Infantil de Beijing Hospital, Universidad Médica Capital, Pekín, China

² Laboratorio Clave de Enfermedades Graves en Niños, Ministerio de Educación, Pekín, China

Co-primero autor: Suhui Kuang y Tinghong Liu

Autor de correspondencia:

Shuli Liang, Departamento de Neurocirugía Funcional, Centro Nacional de Salud Infantil de China, Hospital Infantil de Pekín, Universidad Médica Capital. Pekín, China; Laboratorio Clave de Enfermedades Graves en la Infancia, Ministerio de Educación, Pekín, China.

Correo electrónico: 301_1sjwk@sina.cn



Creative Commons No Comercial CC BY-NC: Este artículo se distribuye bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) que

permite el uso no comercial, la reproducción y la distribución de la obra sin permiso adicional siempre que se atribuya la obra original como se especifica en la página de SAGE y Acceso Abierto (<https://us.sagepub.com/en-us/nam/open-access-at-sage>).

Pacientes con TSC y modelos animales.

Resultados: La expresión de HMGB1 e IL-1 β se sobreexpresó significativamente en los TE en comparación con los no TE. La expresión de HMGB1 fue predominantemente nuclear en los no TE, pero principalmente citoplasmática en los TE. En modelos animales, la expresión de HMGB1 e IL-1 β , tanto a nivel génico como proteico, aumentó significativamente en el grupo deficiente en TSC2 en comparación con el grupo de tipo silvestre. La expresión de IL-1 β fue menor en el grupo de intervención con HMGB1 que en el grupo control. La frecuencia de convulsiones se redujo tanto en el grupo de prevención como en el grupo de intervención con HMGB1 e IL-1 β , en comparación con el grupo control.

Conclusiones: La interferencia de HMGB1 e IL-1 β redujo significativamente la frecuencia de las crisis convulsivas en la CET. Las crisis epilépticas son desencadenantes clave de la translocación de HMGB1 y su posterior liberación al citoplasma, lo que contribuye a la recurrencia de las crisis.

Palabras clave

Epilepsia, epileptogenicidad, proteína del grupo de alta movilidad b-1 (HMGB1), interleucina 1 β (IL-1 β), complejo de esclerosis tuberosa

Introducción

El complejo de esclerosis tuberosa (TSC) es un trastorno hereditario con un patrón de herencia autosómico dominante, impulsado por variantes patogénicas en el gen TSC1 o TSC2.

La TSC puede afectar múltiples órganos, aunque la mortalidad infantil a menudo surge de trastornos neurológicos, como el estado epiléptico o la muerte súbita inesperada en la epilepsia.¹ Más del 60% de las personas con TSC experimentan epilepsia resistente a los medicamentos con múltiples tipos de convulsiones y discapacidades intelectuales asociadas, lo que subraya la carga clínica de la epilepsia refractaria en esta población.^{2,3} Los tubérculos corticales representan las lesiones cerebrales distintivas en pacientes con epilepsia relacionada con TSC, que se clasifican en tubérculos epileptogénicos (TE) y no TE. La cirugía resectiva ha demostrado ser efectiva en el manejo de la epilepsia intratable relacionada con TSC, con un 68% a 75% de los pacientes que logran la libertad de convulsiones o una reducción significativa de las convulsiones (> 90%) después de la eliminación de los TE.^{4–6} Además, el 92,6% de los pacientes sometidos a cirugía de epilepsia resectiva tienen cuatro o más tubérculos corticales en el cerebro; Sin embargo, no todos estos se clasifican como TE.⁶ El número y el volumen relativo de los tubérculos corticales se estabilizan después del primer año de vida, sin aumentos posteriores.

Además, las ubicaciones consistentes de las descargas epileptiformes interictales en el electroencefalograma (EEG) del cuero cabelludo respaldan aún más la estabilidad de los TE a lo largo del tiempo en pacientes con epilepsia relacionada con la CET.^{7,8} No hay diferencia en la distribución de los tubérculos corticales o los TE en las distintas regiones cerebrales, y no se han detectado diferencias genéticas significativas entre los TE y los no TE dentro del mismo paciente.³ Estos hallazgos sugirieron que mecanismos más allá de las mutaciones relacionadas con la CET podrían contribuir al desarrollo de la epilepsia relacionada con la CET.

Los mecanismos subyacentes a la epilepsia son complejos, con una fuerte conexión entre la inflamación neuroinmune y el desarrollo del trastorno.^{9,10} La proteína del grupo de alta movilidad B-1 (HMGB1) es una proteína nuclear que desempeña un papel fundamental en la regulación de diversos procesos relacionados con el ADN. Mientras tanto, la IL-1 β desempeña un papel fundamental en la respuesta a lesiones y la inflamación.¹¹ Se sabe que la HMGB1 y la IL-1 β influyen en la actividad eléctrica de

neuronas y células gliales, lo que contribuye aún más a las respuestas inflamatorias localizadas.^{11–13} Las convulsiones se asocian frecuentemente con niveles elevados de IL-1 β , lo que enfatiza el impacto de las citocinas inflamatorias sobre la hiperexcitabilidad neuronal y la epileptogénesis.^{9,11} TLR4, un receptor involucrado en la inmunidad innata se expresa en varias células inmunes y no inmunes en el cuerpo de los mamíferos.¹¹ HMGB1 se ha implicado en la interacción con receptores TLR4 en la superficie de las neuronas y células gliales en la epilepsia.^{11–13} Las convulsiones epilépticas pueden iniciar respuestas neuroinflamatorias, exacerbando el daño neuronal. Esto crea un círculo vicioso en el que la inflamación, las convulsiones y la lesión cerebral se perpetúan mutuamente.^{14–17} Los métodos actuales de pronóstico de la recurrencia de la epilepsia y La remisión se basa principalmente en evaluaciones clínicas como la semiología de las convulsiones, la resonancia magnética (IRM) y los registros del electroencefalograma (EEG); sin embargo, La precisión aún requiere mejoras.¹⁸ Por lo tanto, los biomarcadores inflamatorios ofrecen una estrategia prometedora para mejorar la precisión diagnóstica y profundizar la comprensión de la epilepsia. mecanismos vinculados a los extraterrestres. Cabe destacar que HMGB1 se ha convertido en un candidato convincente. mostrando un potencial significativo tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de la epilepsia.^{11,13,18} Se ha prestado atención a la HMGB1 como un importante desencadenante neuroinflamatorio, con evidencia que sugiere un eje regulador que involucra a HMGB1, TLR4 e IL-1 β que puede ser la base de las convulsiones. recurrencia y resistencia al tratamiento.¹¹

A pesar de los avances logrados en los estudios preclínicos, gran parte de la evidencia que vincula La HMGB1, TLR4 e IL-1 β en la epilepsia se deriva de modelos animales. Validación clínica. Es necesario traducir estos hallazgos en resultados terapéuticos en pacientes con epilepsia relacionada con TSC. estrategias. Este estudio investiga la relación y los mecanismos subyacentes de Eje HMGB1, TLR4 e IL-1 β en la epilepsia relacionada con TSC, con el objetivo de identificar Nuevos objetivos de intervención y biomarcadores en la epilepsia resistente a fármacos.

Materiales y métodos

Preparación del tejido del paciente

Se obtuvieron muestras de tubérculos corticales de 17 pacientes que se sometieron a cirugía resectiva de epilepsia en el Hospital de Niños de Beijing, que comprendían 17 pares de TE y no TE. Los criterios de inclusión para este estudio fueron los siguientes: (1) diagnóstico de TSC basado en criterios de diagnóstico clínico de TSC y anomalía confirmada del gen TSC1 o TSC219; (2) Diagnóstico de epilepsia intratable, definida por la falta de respuesta a al menos tres tratamientos diferentes. tipos de medicamentos anticonvulsivos; (3) realización de evaluaciones preoperatorias, incluidas Monitoreo estereo-EEG, realizado por un equipo multidisciplinario en nuestro centro integral de epilepsia en Beijing; (4) extirpación del TE y no TE adyacente durante la cirugía resectiva de epilepsia de septiembre de 2019 a julio de 2021. En todos los casos, tuberectomía (extirpación de La ET y los no ET cercanos) se guiaron mediante navegación neuroimagen intraoperatoria. Se programó un seguimiento de los pacientes un año después de la cirugía para evaluar la evolución de las convulsiones. Una TE se definió como un tubérculo cortical confirmado como la zona de inicio de las convulsiones mediante Estereo-EEG ictal,^{6,20} mientras que un no-ET se refería a un tubérculo cortical vecino sin actividad convulsiva en el monitoreo estereo-EEG. Dado que actualmente no existen marcadores biológicos específicos, características de imagen o indicaciones patológicas para confirmar definitivamente si...

El tejido resecado quirúrgicamente es un tubérculo epileptogénico, los pacientes que continuaron experimentando Se excluyeron las convulsiones después de la cirugía para evitar la identificación errónea de tubérculos no epileptogénicos como epileptogénicos y posteriormente utilizarlos para investigación experimental. Esto garantiza que el tejido cortical recolectado postoperatoriamente es de hecho del epileptogénico resecado tubérculo. Los pacientes que experimentaron convulsiones durante el seguimiento de un año fueron excluidos del estudio. El estudio. Los resultados de las convulsiones se evaluaron de acuerdo con la Liga Internacional Contra las Convulsiones. Clasificación de resultados de la epilepsia (ILAE): ILAE tipo 1 (sin convulsiones) e ILAE tipo 2 (no libre de convulsiones). La extensión de la resección, tanto de los TE como de los TE adyacentes, se confirmó mediante la comparación de las imágenes T2-FLAIR de la resonancia magnética preoperatoria con las imágenes de la resonancia magnética posoperatoria. Según lo verificado por un neurocirujano y un neurorradiólogo. Recolección y manipulación de tejido. El Comité de Ética del Hospital Infantil de Pekín autorizó los estudios. Se obtuvo el consentimiento informado de los cuidadores de todos los participantes. El estudio se realizó de conformidad con la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 2024.

Animales y modelo de epilepsia

Ratones knockout TSC2 flox/flox-GFAP-Cre (TSC2-GFAP-CKO), con un gen C57BL/6 Antecedentes: el gen TSC2 se había inactivado condicionalmente en la glía impulsado por una fibrilación glial. Promotor de la proteína ácida (GFAP) a través del sistema Cre-LoxP. TSC2 flox/flox-GFAP-Cre Los ratones knock-out tenían una larga historia y eran un modelo típico utilizado para estudiar la enfermedad relacionada con la CET. No se observaron diferencias significativas basadas en el sexo, como se describió previamente.²¹ Nosotros Se utilizaron un total de 36 ratones en este estudio, sin restricción de sexo. Los ratones tenían entre 6 y 8 semanas y pesaron entre 18 y 30 gramos. La genotipificación se realizó durante el Primera semana de vida para confirmar la presencia de las modificaciones genéticas objetivo. Los ratones... Se alojaron en un ambiente controlado con una temperatura de 22 ± 2 °C y una humedad de 40–60%, un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad y con suficiente comida y agua para garantizar Su crecimiento y salud. El informe de este estudio se ajusta a las directrices ARRIVE 2.0.²²

El tamaño de la muestra ($n=6$ por grupo) se determinó utilizando el software PASS con los siguientes parámetros: Tamaño del efecto (f)=0,6, nivel de significancia (α)=0,1 y potencia=0,8. Además, consideramos cuidadosamente las pautas éticas para los experimentos con animales y viabilidad de los recursos. Los fármacos antiepilepticos son solo tratamientos sintomáticos, que no pueden Prevenir la aparición o progresión de la epilepsia y no corrigen la enfermedad cerebral subyacente. anomalías o mecanismos que conducen a la epilepsia. Para desarrollar estrategias más específicas para la enfermedad terapias, puede ser necesario apuntar a los procesos epileptogénicos subyacentes que ocurren Durante el período de latencia. Por lo tanto, dividimos el grupo experimental en un grupo de prevención y un grupo de intervención. Se estableció el modelo epiléptico y se dividió aleatoriamente en seis grupos ($n = 6$ por grupo): grupo control de tipo silvestre, grupo modelo. grupo de control (ratones TSC2-GFAP-CKO), grupo de prevención de HMGB1, grupo de prevención de IL-1 β Grupo de intervención, grupo de intervención con HMGB1, grupo de intervención con IL-1 β (Figura 1A-1B). En el grupo de prevención, se inyectó diariamente a los ratones TSC2-CKO en el día posnatal 14 (P14) a través de la vena de la cola con anticuerpo monoclonal HMGB1 (8 μ g/g de peso corporal) o IL-1 β anticuerpo monoclonal (11 μ g/g de peso corporal) durante 22 días.^{23–26} En los grupos de intervención, Los ratones TSC2-GFAP-CKO en el día postnatal 28 (P28) fueron inyectados a través de la vena de la cola con HMGB1 o IL-1 β equivalente durante 22 días. Modelo de ratón epiléptico.

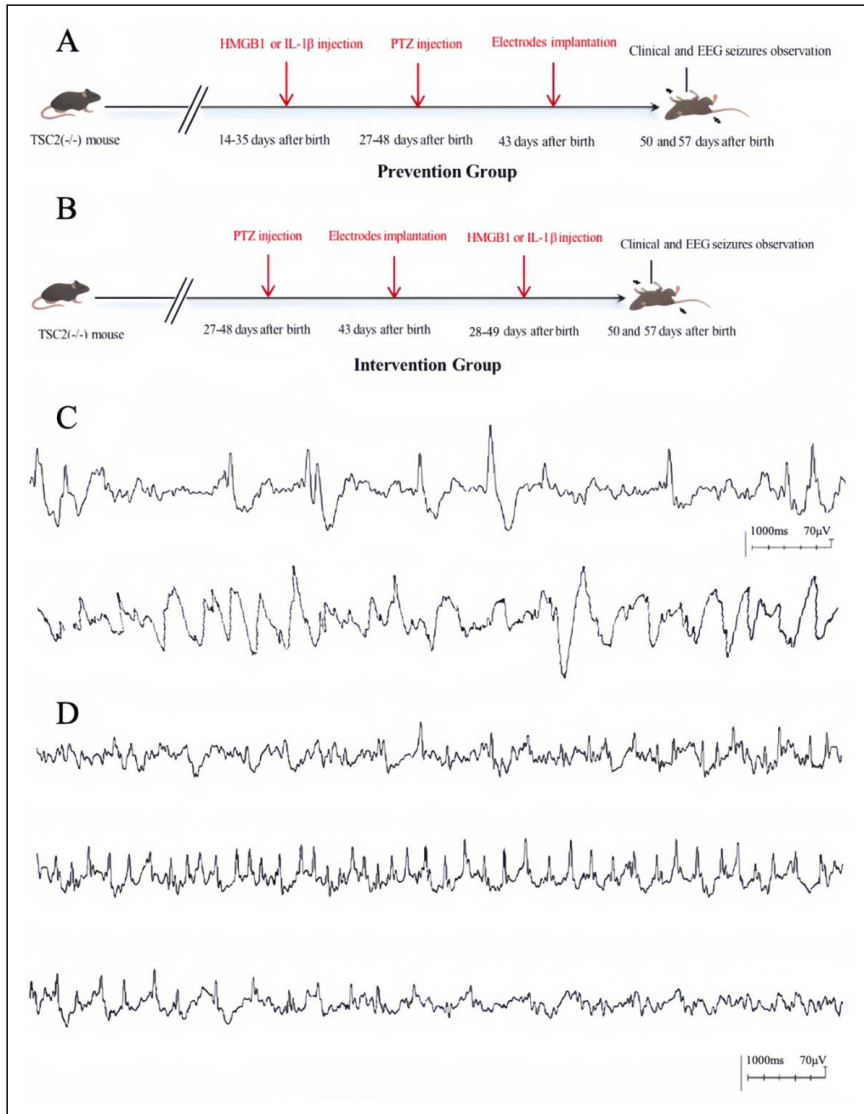


Figura 1. Diagrama de flujo de interferencia de ratones modelo en los grupos de prevención e intervención, descarga epileptiforme interictal y patrón EEG ictal. Figura 1A: Esquema que representa la configuración experimental para ratones modelo en el grupo de prevención. Figura 1B: Esquema que representa la configuración experimental para ratones modelo en el grupo de intervención. Figura 1C: La descarga epileptiforme interictal en el EEG se definió como una descarga anormal en el EEG. Figura 1D: El EEG ictal se definió como una actividad eléctrica explosiva sincrónica continua superior a 2 Hz durante más de 3 s.

Se indujo pentilentetrazol (PTZ) a una dosis de 35 mg/kg por inyección intraperitoneal durante 22 días consecutivos a las 27.27 Los ratones con estadios IV-V de Racine se consideraron ratones modelo válidos.²⁸ Además, se registró la latencia hasta el inicio de las convulsiones para evaluar la susceptibilidad basal a las mismas, sin encontrar diferencias significativas entre los grupos ($P > 0,05$). La frecuencia de las convulsiones se registró en los días posnatales 50 (P50) y 57 (P57).

Procedimiento quirúrgico y monitorización EEG: La anestesia se indujo mediante inyección intraperitoneal de isopentobarbital a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal. La implantación del electrodo se realizó el día 43 posnatal (P43). Después de asegurar al ratón en una plataforma quirúrgica, se desinfectó la piel de la cabeza y se expuso el cráneo. Se insertó un tornillo de 0,5 mm 2 mm anterior y 2 mm lateral a la fontanela anterior para que actuara como electrodo de referencia y cable de tierra. De forma similar, se colocó un tornillo de 0,8 mm 2 mm posterior y 2 mm lateral a la fontanela anterior, llegando a la corteza, y sirvió como electrodo de registro. El cuidado posquirúrgico incluyó inyecciones diarias de 2000 UI de penicilina durante los tres primeros días posteriores al procedimiento para prevenir infecciones. Siete días después de la implantación, los ratones fueron asegurados en un fijador de plástico personalizado y se iniciaron los registros EEG con los ratones en un estado completamente despierto. Para evitar la variabilidad relacionada con el tiempo, las sesiones de EEG se realizaron entre las 9:00 y las 11:00 a. m. a intervalos de siete días. Registramos un EEG basal durante un estado de vigilia sin convulsiones en los ratones. Estos datos basales ayudan a definir los patrones normales de actividad cerebral en los ratones y sirven como referencia para interpretar datos de EEG posteriores. El registro de descargas epilépticas se definió como descarga anormal en el EEG, y el registro de actividad eléctrica explosiva sincrónica continua que excedía los 2 Hz durante más de 3 s en el EEG se definió como evento convulsivo (Figura 1C-1D).²⁹ Al comparar el EEG registrado durante los períodos de convulsión con la línea base, podemos determinar si se han producido descargas convulsivas u otras actividades eléctricas anormales.

Tras el experimento, se recogieron y procesaron tejidos cerebrales de todos los ratones según sus respectivos grupos. Dadas las diferencias en los fenotipos clínicos entre el modelo murino TSC y los humanos, rara vez se observan tubérculos corticales en los cerebros de los ratones.³⁰ Se detectó la corteza de los ratones de tipo silvestre y del modelo (TSC2-GFAP-CKO), en lugar de centrarse en los tubérculos corticales. Los animales fueron sacrificados con CO_2 , y la muerte se confirmó por la ausencia de latidos cardíacos y movimientos respiratorios. Minimizamos el número de animales utilizados mediante cálculos del tamaño de la muestra y el cumplimiento de las 3R, a la vez que garantizamos su bienestar mediante la implementación de criterios de valoración humanitarios, protocolos de anestesia y analgesia adecuados, y siguiendo la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, 8.^a edición.³¹

Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Rt-PCR)

Las secuencias de cebadores se presentan en la Tabla Suplementaria 1. Tras la descongelación, los tejidos del tubérculo se molieron y se aisló el ARN total con el kit de extracción de ARN TRIZOL (Tiangen Biotech, n.º de catálogo DP405-02). La concentración y la pureza del ARN se evaluaron mediante absorción ultravioleta con un NanoDrop®.

ND-2000, con agua DEPC utilizada para la calibración de referencia. La pureza e integridad del ARN se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa desnaturalizante. La síntesis de ADNc se realizó con el kit de reactivos PrimeScript™ RT con borrador de ADNg (Takara Bio, Catálogo).

Kuang y otros.

N.º RR047B). Se realizó PCR en tiempo real para cuantificar los genes diana y la referencia interna de cada muestra, utilizando triplicados para cada medición con el sistema Applied Biosystems QuantStudio 6. El nivel de expresión génica se normalizó según la expresión de GAPDH y se calculó mediante el método $2^{-\Delta\Delta CT}$. Se utilizaron tres réplicas biológicas independientes para los experimentos.

Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)

Los niveles de HMGB1, TLR4, IL-1 β e IL-1R en el sobrenadante tisular se midieron mediante kits ELISA siguiendo los protocolos del fabricante (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.). Se registró la absorbancia a 450 nm de cada pocillo con un espectrofotómetro y las concentraciones de proteína se determinaron mediante una curva estándar. Las concentraciones finales se obtuvieron ajustando el factor de dilución. Se utilizaron tres réplicas biológicas independientes para los experimentos.

Inmunofluorescencia

Los experimentos de inmunofluorescencia se utilizan principalmente para detectar y localizar la expresión y distribución de proteínas específicas en tejidos. En este estudio, el objetivo principal de los experimentos de inmunofluorescencia es evaluar la expresión de HMGB1, TLR4, IL-1 β e IL-1R durante el proceso de epilepsia y su relación con las respuestas neuroinflamatorias. Las secciones de parafina se desparafinaron en agua y se sometieron a recuperación de antígeno en un horno microondas utilizando un tampón de recuperación de antígeno EDTA (pH 8,0). Una vez ligeramente secas, se utilizó un marcador histoquímico para dibujar un límite alrededor del tejido. Se aplicó un agente supresor de la fluorescencia espontánea dentro del área marcada durante 5 minutos, seguido de un enjuague de 10 minutos con agua corriente. A continuación, se añadió albúmina de suero bovino a la misma área y las secciones se incubaron durante 30 minutos. Los anticuerpos primarios HMGB1 (1:250; Abcam; n.º de cat. ab79823), TLR4 (1:100; Abcam; n.º de cat. ab22048), IL-1 β (1:50; Abcam; n.º de cat. ab315084) e IL-1R (1:50; Santa Cruz Biotechnology; n.º de cat. sc-66054) se incubaron durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, tras lavarse con solución salina tamponada con fosfato (PBS), las secciones se incubaron con Alexa Fluor 568 y Alexa Fluor 488 (IgG anti-conejo o anti-ratón; 1:500) durante 2 h a temperatura ambiente.

Los núcleos se contratiñeron con solución DAPI. Finalmente, los portaobjetos se sellaron y se observaron con un microscopio de fluorescencia para obtener imágenes. Las secciones se obtuvieron a $\times 4$ y $\times 40$ con un microscopio confocal Leica TCS SP8. Las imágenes se capturaron con Leica LAS X. El área y la intensidad de fluorescencia de las células positivas se analizaron automáticamente con el software Image-Pro Plus 6.0. HMGB1: Umbral establecido en 32-255, TLR4: Umbral establecido en 18-255, IL-1 β : Umbral establecido en 23-255, IL-1R: Umbral establecido en 34-255.

Análisis estadístico. El

análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism (versión 10.2.0; GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EE. UU.). Los resultados se presentan como media $\pm$ DE. Las pruebas empleadas incluyen la prueba t, la prueba de rangos con signo de Wilcoxon, la prueba ANOVA de una vía y...

Prueba U de Mann-Whitney. La homogeneidad de la varianza se evaluó con la prueba f y la prueba de Bartlett, mientras que la prueba de Shapiro-Wilk verificó la normalidad. Se aplicó la corrección de Tukey para comparaciones múltiples en las pruebas estadísticas. Se deben utilizar pruebas no paramétricas cuando los datos no se distribuyen normalmente o cuando la varianza es desigual. La significancia estadística se definió como un valor p bilateral $< 0,05$. Para evitar sesgos, los autores desconocieron el protocolo experimental durante los experimentos y el análisis estadístico.

Resultados

La expresión de HMGB1 y TLR4 aumentó en pacientes con epilepsia relacionada con TSC y ratones TSC2-GFAP-CKO. Se midieron los

niveles relativos de expresión de ARN de HMGB1 ($1,40 \pm 0,32$; $p < 0,0001$) y TLR4 ($1,59 \pm 1,01$; $p = 0,045$) en tubérculos epileptogénicos (TE) de muestras de pacientes. Tanto HMGB1 como TLR4 mostraron una expresión significativamente mayor en los TE que en los no TE (Figura 2A). Para evaluar la expresión proteica, se realizó una prueba ELISA, la cual reveló que los niveles de HMGB1 ($1083,13 \pm 241,53$) y TLR4 ($3936,67 \pm 1216,50$) en pacientes sin TE fueron significativamente menores que en pacientes con TE (HMGB1: $1340,62 \pm 196,08$, $p = 0,017$; TLR4: $5391,59 \pm 872,02$, $p = 0,007$) (Figura 2B). La expresión diferencial de HMGB1 y TLR4 en pacientes con TE y pacientes sin TE podría influir en la epileptogénesis de pacientes con CET.

En el modelo animal, el nivel relativo de ARN de HMGB1 y TLR4 en el grupo de control de tipo salvaje fue marcadamente menor en comparación con el grupo de control del modelo (HMGB1: $0,81 \pm 0,50$ frente a $3,03 \pm 1,42$, $P = 0,004$; TLR4: $0,94 \pm 0,66$ frente a $2,97 \pm 0,99$, $P = 0,002$) (Figura 2C). De manera similar, el análisis proteómico mostró niveles de proteína significativamente más bajos de HMGB1 y TLR4 en el grupo de tipo silvestre en comparación con el grupo modelo (HMGB1: $997,24 \pm 176,69$ vs. $1438,87 \pm 166,11$, $P = 0,001$; TLR4: $2878,45 \pm 317,21$ vs. $4550,19 \pm 537,83$, $P < 0,0001$) (Figura 2D). Tanto HMGB1 como TLR4 se sobreexpresaron en ratones epilépticos deficientes en TSC2. Este patrón de expresión diferencial puede contribuir al desarrollo de la epilepsia en modelos de TSC.

La expresión de IL-1 β e IL-1R aumentó en pacientes con epilepsia relacionada con TSC y ratones TSC2-GFAP-CKO

En pacientes con CET, los niveles promedio de expresión relativa de ARN de IL-1 β ($2,37 \pm 2,02$, $P = 0,005$) e IL-1R ($2,43 \pm 2,51$, $P = 0,009$) fueron significativamente mayores en los tubérculos epileptogénicos (TE) en comparación con los no TE (Figura 2A). El contenido proteico de IL-1 β también mostró una diferencia significativa entre los TE ($253,16 \pm 41,37$) y los no TE ($196,16 \pm 51,93$) ($P = 0,046$). De igual manera, el nivel proteico de IL-1R fue mayor en los TE ($3477,25 \pm 741,68$) que en los no TE ($2846,46 \pm 805,50$) ($P = 0,043$) (Figura 2B). Estos hallazgos resaltan el papel importante de los factores inflamatorios en el mecanismo de la epilepsia.

En el modelo animal epiléptico, la expresión relativa de ARN tanto de IL-1 β como de IL-1R fue significativamente menor en el grupo de control de tipo salvaje en comparación con el grupo de control modelo (IL-1 β : $0,86 \pm 0,23$ frente a $2,53 \pm 0,60$, $P < 0,0001$; IL-1R: $1,07 \pm 0,63$ frente a $2,89 \pm$

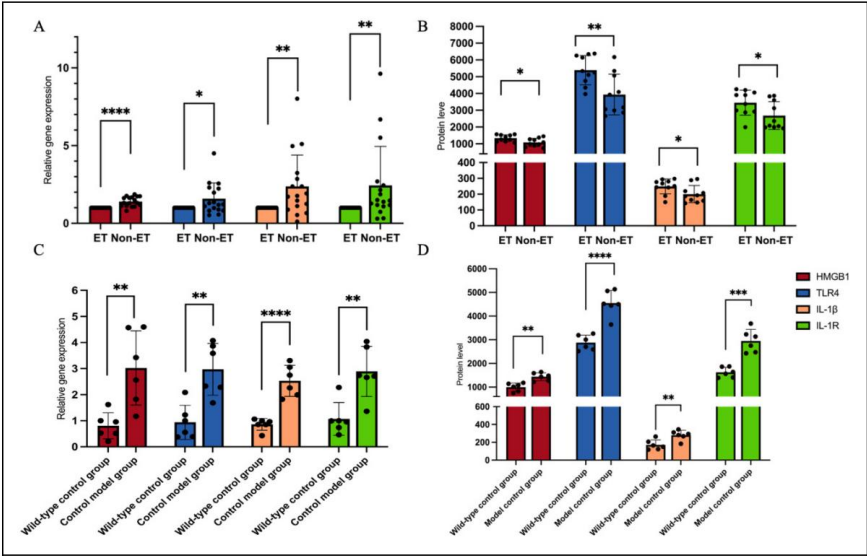


Figura 2. Expresión relativa de ARN y proteínas de HMGB1, TLR4, IL-1β e IL-1R en tubérculos epileptogénicos (TE) y tubérculos no epileptogénicos (no TE) (ARN: n = 17; proteína: n = 10), y en el grupo de ratones modelo de tipo silvestre y control (n = 6). La Figura A mostró que el nivel relativo de ARN de HMGB-1 ($1,40 \pm 0,32$, $t(17) = 5,574$, $P < 0,0001$), TLR4 ($P = 0,045$), IL-1β ($P = 0,005$) e IL-1R ($P = 0,009$) fue significativamente menor en los no TE en comparación con los TE. La Figura B mostró que el nivel de proteína de HMGB-1 ($t(18)=2,617$, $P=0,017$), TLR4 ($t(18)=3,074$, $P=0,007$), IL-1β ($t(18)=2,140$, $P=0,046$) e IL-1R ($P=0,043$) fue significativamente menor en los no-ET que en los ET. La Figura C mostró que el nivel relativo de ARN de HMGB-1 ($P=0,004$), TLR4 ($t(10)=4,179$, $P=0,002$), IL-1β ($t(10)=6,411$, $P < 0,0001$) e IL-1R ($P=0,004$) fue significativamente menor en el grupo control de tipo silvestre en comparación con el grupo control modelo. La Figura D mostró que el nivel de proteína de HMGB-1 ($t(10) = 4,461$, $P = 0,001$), TLR4 ($t(10) = 6,558$, $P < 0,0001$), IL-1β ($t(10) = 3,449$, $P = 0,006$) y IL-1R ($t(10) = 6,108$, $P = 0,0001$) fueron significativamente menores en el grupo de control de tipo salvaje en comparación con el grupo de control modelo (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$).

0,96, $P = 0,004$) (Figura 2C). Asimismo, los niveles de expresión proteica de IL-1β e IL-1R se redujeron notablemente en el grupo de tipo silvestre en comparación con el grupo modelo (IL-1β: $171,30 \pm 55,49$ frente a $280,47 \pm 54,17$, $P = 0,006$; IL-1R: $1622,42 \pm 212,63$ frente a $2949,45 \pm 487,88$, $P = 0,0001$) (Figura 2D). Estos resultados indican que IL-1β e IL-1R están significativamente sobreexpresados en ratones epilépticos deficientes en TSC2, mostrando un patrón de expresión distinto en comparación con los controles de tipo silvestre, lo que respalda aún más su participación en la patogénesis de la epilepsia.

Patrón de expresión de inmunofluorescencia de HMGB1/TLR4 e IL-1R/IL-1β en pacientes con epilepsia relacionada con CET. Se realizó una tinción de

inmunofluorescencia para explorar el patrón de expresión microscópica de HMGB1/TLR4 e IL-1R/IL-1β en pacientes con TE y no TE. Los porcentajes de positividad...

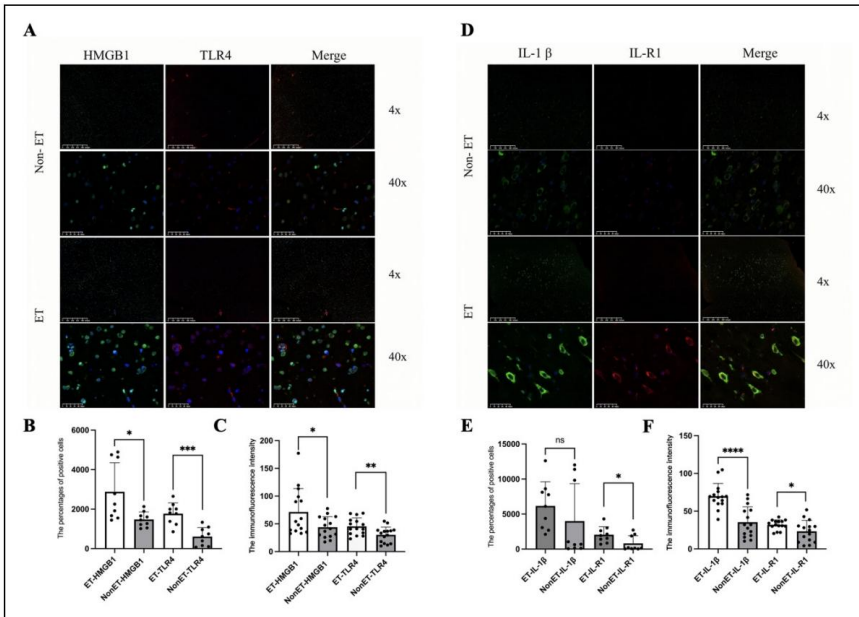


Figura 3. Inmunofluorescencia de HMGB1, TLR4, IL-1 β e IL-1R en ET y no ET. La expresión positiva de HMGB1 se muestra en verde y la de TLR4 en rojo en la imagen de inmunofluorescencia en ET y no ET (Figura 3A, aumentos: $\times 4$ y $\times 40$). Los porcentajes de células positivas (área positiva) ($n = 9$) de HMGB1 ($t(16) = 2,770$, $P = 0,014$) y TLR4 ($t(16) = 4,884$, $P = 0,0002$) fueron mayores en los ET que en los no ET (Figura 3B) y la intensidad de fluorescencia ($n = 15$) de HMGB1 ($t(28) = 2,285$, $P = 0,030$) o TLR4 ($t(28) = 2,857$, $P = 0,008$) fue mayor en los ET que en los no ET (Figura 3C). La expresión positiva de IL-1 β es verde y la expresión positiva de IL-1R es roja en la imagen de inmunofluorescencia en los ET y no ET (Figura 3D, aumentos: $\times 4$ y $\times 40$). El área positiva ($n=9$) de IL-1R ($P=0,031$) fue mayor en los ET que en los no ET (Figura 3E), y la intensidad de fluorescencia ($n=15$) de IL-1 β ($t(28)=5,055$, $P < 0,0001$) o IL-1R ($t(28)=2,111$, $P=0,043$) fue mayor en los ET que en los no ET (Figura 3F).

Las células (área positiva) que expresaban HMGB1, TLR4 e IL-1R fueron menores en los no-ET que en los ET (Figura 3). Además, la intensidad de fluorescencia de HMGB1, TLR4, IL-1 β e IL-1R también fue menor en los no-ET que en los ET (Figura 3).

Además, la HMGB1 mostró patrones de localización distintivos: se limitó principalmente al núcleo neuronal en las neuronas no-ET, mientras que en las ET se expresó predominantemente en el citoplasma (Figura 3). Estos hallazgos resaltan las diferencias en la distribución microscópica y el potencial epileptogénico entre las ET y las no-ET, lo que sugiere un papel de estos patrones distintivos en la patogénesis de la epilepsia relacionada con la CET. La expresión de HMGB1 e IL-1 β podría contribuir a la mayor epileptogenicidad observada en la epilepsia relacionada con la CET.

Respuesta inflamatoria regulada por HMGB1 a través de IL-1 β en un modelo animal Para

demostrar aún más la función preventiva y terapéutica de HMGB1 en la epilepsia, a los ratones TSC2-GFAP-CKO de los grupos de prevención e intervención se les administraron anticuerpos monoclonales dirigidos a HMGB1 o IL-1 β mediante inyección en la vena de la cola.

La interferencia profiláctica con HMGB1 resultó en una supresión significativa de la expresión de IL-1 β , mientras que no se observó una reducción notable en los niveles de IL-1 β en el grupo de intervención con HMGB1 (Figura 4). Los niveles relativos de ARN y proteína de IL-1 β disminuyeron significativamente en el grupo de prevención e intervención con IL-1 β en comparación con el grupo control modelo. Además, la expresión de HMGB1 mostró una tendencia descendente tras la interferencia con IL-1 β . En general, se sugirió la posible existencia de una vía de señalización inflamatoria mediada por la diana de HMGB1 a IL-1 β .

La frecuencia de ataques convulsivos y descarga anormal en el EEG disminuyó en el grupo de prevención e intervención en el modelo animal de epilepsia En nuestro estudio, el grupo de control de

tipo silvestre exhibió la frecuencia más baja de ataques convulsivos, mientras que el grupo de control modelo mostró la frecuencia más alta. La frecuencia de convulsiones en el grupo de control modelo fue significativamente más alta que en el grupo de tipo silvestre tanto en P50 ($P = 0,0004$; Dif. media = $-7,5$, CL95% $(-12,110$ a $-2,891)$) como en P57 ($P = 0,02$; Dif. media = $-2,67$, CL95% $(-5,008$ a $-0,325)$). Además, la frecuencia de descarga anormal en el EEG y ataques convulsivos en P50 disminuyó significativamente en el grupo de prevención e intervención con HMGB1 e IL-1 β en comparación con el grupo de control modelo (Figura 4). Estos hallazgos sugieren que la focalización de HMGB1 e IL-1 β puede mitigar las convulsiones y las descargas electroencefalográficas anormales al aliviar la respuesta inflamatoria. A los 57 años, los ratones modelo de control continuaron mostrando una frecuencia significativamente mayor de descargas electroencefalográficas anormales que los controles de tipo silvestre ($P = 0,02$; Diferencia Media = $-2,667$, CL95% $(-5,502$ a $-0,281)$). En general, los resultados indican que HMGB1 e IL-1 β tienen un efecto perjudicial en la progresión de la epilepsia. La interferencia con estos mediadores inflamatorios condujo a una reducción en la frecuencia de las convulsiones, lo que destaca su potencial como dianas terapéuticas para el tratamiento de la epilepsia.

Discusión

La TSC es un trastorno neurocutáneo autosómico dominante multisistémico, en el que todas las células cerebrales exhiben la misma mutación genética subyacente.³² Sin embargo, los hallazgos del EEG preoperatorio, la MRI y el control de convulsiones posoperatorio confirman que no todas las regiones cerebrales contienen tubérculos corticales, y no todos los tubérculos funcionan como tubérculos epileptogénicos (TE).^{2,33} Esto sugiere que el mecanismo de dos impactos que impulsa la hiperepileptogenicidad de los TE es probablemente crítico para desarrollar estrategias efectivas para prevenir y tratar las convulsiones relacionadas con la TSC.³⁴ Los mecanismos epigenéticos, como la metilación del ADN y los microARN, se han implicado en la displasia cortical.³⁵ Además, se ha demostrado que la IL-1 β se sobreexpresa tanto en pacientes como en modelos animales con epilepsia relacionada con la TSC.^{36,37} Investigar los roles biológicos de los procesos inmunes e inflamatorios en la epileptogénesis podría facilitar el descubrimiento

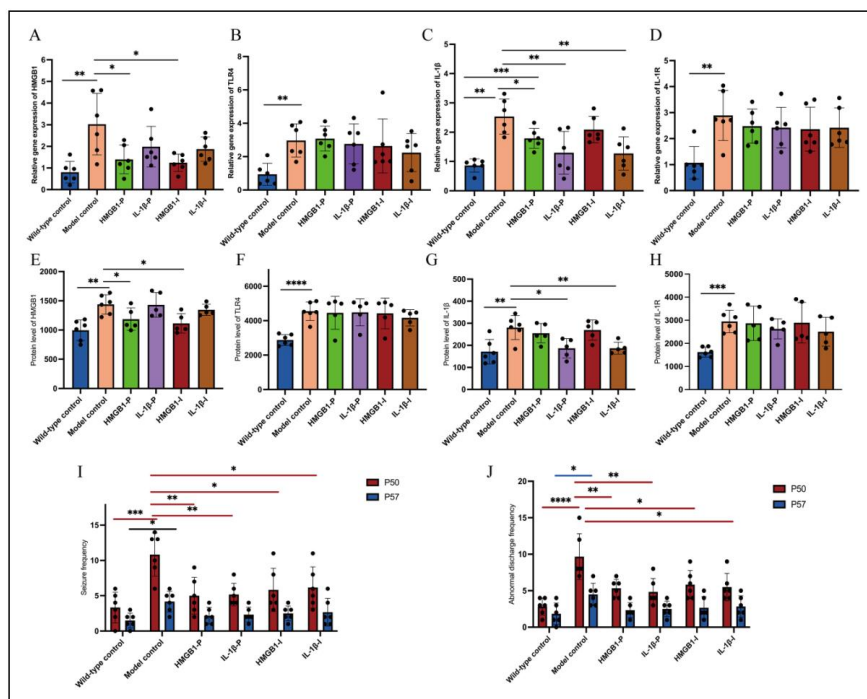


Figura 4. Patrón de expresión de ARN y proteína relativos de HMGB1, TLR4, IL-1β, IL-1R, y frecuencia de descarga anormal y ataques convulsivos en el modelo de ratón. (línea roja: P50; línea azul: P57).

Las figuras (5A-5D) muestran el contenido relativo de ARN de HMGB-1, TLR4, IL-1β e IL-1R en el grupo control de tipo silvestre, el grupo control modelo, el grupo de prevención con HMGB1, el grupo de prevención con IL-1β, el grupo de intervención con HMGB1 y el grupo de intervención con IL-1β. El contenido relativo de ARN de IL-1β en el grupo de intervención con HMGB1 fue menor en comparación con el grupo control modelo ($t(10) = 2,645$, $p = 0,025$) y mayor que en el grupo de tipo silvestre.

Las figuras (5E-5H) muestran los niveles proteicos de HMGB-1, TLR4, IL-1β e IL-1R en el grupo control silvestre, el grupo control modelo, el grupo de prevención con HMGB1, el grupo de prevención con IL-1β, el grupo de intervención con HMGB1 y el grupo de intervención con IL-1β. El contenido proteico de HMGB1 ($t(10)=4,461$, $p=0,001$), TLR4 ($t(10)=6,558$, $p < 0,0001$), IL-1β ($t(10)=3,449$, $p < 0,006$) e IL-1R ($t(10)=6,108$, $p=0,001$) en el grupo control silvestre fue significativamente menor que en el grupo control modelo. Figura (5I-5J): La frecuencia de ataques convulsivos en P50 en los grupos de prevención con HMGB1 ($P = 0,007$) e intervención ($P = 0,027$) disminuyó significativamente en comparación con el grupo de control modelo. La frecuencia de ataques convulsivos en P50 en los grupos de prevención con IL-1β ($P = 0,009$) e intervención ($P = 0,046$) disminuyó significativamente en comparación con el grupo de control modelo. La frecuencia de descarga anormal en el EEG en P50 en los grupos de prevención con HMGB1 ($P = 0,007$) e intervención ($P = 0,023$) disminuyó significativamente en comparación con el grupo de control modelo. La frecuencia de descarga anormal en el EEG en P50 en los grupos de prevención con IL-1β ($P = 0,002$) e intervención ($P = 0,011$) disminuyó significativamente en comparación con el grupo de control modelo. La frecuencia de descargas anormales en el EEG ($P < 0,0001$) y de convulsiones ($P = 0,0004$) en el P50 en el grupo control de tipo silvestre disminuyó significativamente en comparación con el grupo control modelo. La frecuencia de descargas anormales en el EEG ($P = 0,018$) y de convulsiones ($P = 0,021$) en el P57 en el grupo control de tipo silvestre disminuyó significativamente en comparación con el grupo control modelo (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$; ****: $p < 0,0001$).

De nuevos biomarcadores para una detección más eficaz de los pacientes. Por lo tanto, es esencial profundizar en el conocimiento de las moléculas relacionadas con el sistema inmunitario y la inflamación implicadas en la epilepsia para identificar nuevas dianas terapéuticas. Numerosos estudios han demostrado la participación de las vías inflamatorias mediadas por HMGB1 en trastornos neurológicos, como la epilepsia del lóbulo temporal y otras epilepsias focales. La neuroinflamación crónica desempeña un papel importante en el desarrollo y la progresión de las convulsiones. Vías inflamatorias similares, como las que involucran HMGB1 e IL-1 β , se han implicado en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson, donde la neuroinflamación es un factor impulsor de la progresión de la enfermedad.^{11,38} Estos mecanismos inflamatorios comunes también pueden influir en la hiperexcitabilidad neuronal, contribuyendo a la generación de convulsiones en la epilepsia y exacerbando los procesos neurodegenerativos en otros trastornos.^{11,38} La epilepsia sigue estando inadecuadamente controlada con las terapias existentes, lo que subraya la necesidad de más investigaciones sobre los mecanismos de HMGB1 en la epilepsia.^{11,12,18}

Muchos investigadores han reportado una correlación entre la respuesta inflamatoria y la epilepsia.^{36,37} Sin embargo, los roles precisos de la inflamación y HMGB1 requieren mayor investigación a través de experimentos in vivo e in vitro para dilucidar sus complejas interacciones. Por lo tanto, realizamos una verificación biológica molecular y conductual en estudios animales. La sobreexpresión de HMGB1, TLR4, IL-1 β e IL-1R en ET en comparación con no ET, se demostró en el grupo de tipo silvestre y el grupo de control modelo en ratones. Además, la frecuencia de convulsiones fue más baja en el grupo de control de tipo silvestre y más alta en el grupo de control modelo, lo que respalda la alta epileptogenicidad en ET y ratones deficientes en TSC2.

Aunque el modelo murino mutante TSC2 proporciona importantes perspectivas biológicas sobre la TSC, no puede exhibir tubérculos corticales obvios, lo que limita una comprensión integral de la enfermedad humana.^{30,39} Existen diferencias significativas entre ratones y humanos en el desarrollo cortical, la estructura y la respuesta a estímulos ambientales.³⁹ La complejidad del desarrollo cortical humano y los mecanismos de formación de tubérculos no se replican completamente en modelos murinos. Los factores específicos de la especie pueden influir en la formación de tubérculos corticales en ratones, lo que dificulta reflejar con precisión la patología humana de la TSC.⁴⁰ Además, las respuestas fenotípicas a las mutaciones de TSC2 pueden variar debido a diferencias en los mecanismos reguladores, como el desarrollo de neuronas corticales, la conectividad sináptica y la reparación de lesiones.⁴⁰ Si bien el modelo murino no puede replicar completamente la formación de tubérculos corticales humanos, sí muestra una proliferación anormal de astrocitos inmunorreactivos a GFAP y regulación del tamaño celular en el neocórtex,^{30,39} junto con una actividad neurológica observable relacionada con la epilepsia.

Además, nuestros hallazgos revelaron que HMGB1 se localiza predominantemente en el núcleo de las neuronas en los no-ET, mientras que en los ET se expresa principalmente en el citoplasma. Esto sugiere un mecanismo crucial de translocación de HMGB1 en la epilepsia, potencialmente involucrado en las primeras etapas de la epileptogénesis. Proponemos que las crisis epilépticas actúan como desencadenantes clave de la translocación de HMGB1, facilitando su liberación al citoplasma. Cuando se produce una lesión o muerte de células cerebrales, como por ejemplo a través de una TSC o una displasia cortical, la HMGB1 se libera activamente desde el entorno intracelular al espacio extracelular.⁴¹ Además, el análisis de inmunofluorescencia demostró un patrón de expresión consistente para HMGB1 e IL-1 β , lo que sugiere que la HMGB1 activa la señalización de IL-1 dentro de las neuronas, desempeñando un papel fundamental en el inicio y la recurrencia de las convulsiones.¹⁶

La distribución de HMGB1 entre TE y no TE puede proporcionar información sobre los mecanismos del daño neuronal que contribuyen a la epilepsia. HMGB1 puede amplificar la señalización de IL-1 a través de TLR4 y RAGE, activando las vías de NF- κ B e inflammasoma, que regulan positivamente IL-1 β y otras citocinas proinflamatorias.⁴² Esto aumenta la hiperexcitabilidad neuronal y la recurrencia de las convulsiones. Además, HMGB1 desempeña un papel crucial en la neuroinflamación cuando se libera al espacio extracelular. Su liberación y translocación pueden activar diversas vías de señalización, incluyendo la vía TLR4/NLRP3/Caspasa-1, que está involucrada en la activación de IL-1 β .

⁴³ La activación de IL-1 β , a su vez, exacerba la neuroinflamación, un factor clave en la generación y progresión de convulsiones en la epilepsia. Comprender los mecanismos precisos de la translocación de HMGB1 en las neuronas podría ayudar a identificar puntos reguladores clave para la intervención terapéutica. Además, la interacción HMGB1-IL-1 β podría crear un ciclo inflamatorio autosostenido, donde las convulsiones recurrentes impulsan la liberación continua de HMGB1, lo que impulsa la neuroinflamación crónica y la progresión epiléptica.

Nuestros hallazgos demostraron que una reducción en los niveles de HMGB1 condujo a una disminución correspondiente en la expresión de TLR4 e IL-1 β . Sin embargo, cuando se inhibió IL-1 β , los niveles de HMGB1 también mostraron una disminución. Además, la frecuencia de ataques convulsivos y descargas anormales en el EEG se redujo significativamente tanto en los grupos de prevención como de intervención dirigidos a HMGB1 o IL-1 β , en comparación con el grupo control modelo. Estos resultados indican que tanto la prevención temprana como la intervención tardía son efectivas para reducir la frecuencia de los ataques. El análisis electrofisiológico confirmó además que HMGB1 e IL-1 β influyen en la excitabilidad neuronal. Con base en estas observaciones, proponemos que HMGB1 e IL-1 β podrían participar en un ciclo regulador positivo, con HMGB1 modulando la respuesta inflamatoria a través de IL-1 β , contribuyendo así a la patogénesis de la epilepsia. Al investigar más a fondo el posible papel regulador de HMGB1 en los receptores TLR4 e IL-1 β , se deben considerar varios factores. En primer lugar, se sabe que la HMGB1, como importante mediador inflamatorio, media sus efectos a través de diversos receptores, entre los que destacan TLR4 y el receptor IL-1 β .⁴¹ La HMGB1 puede iniciar respuestas inflamatorias posteriores, como la activación de la vía de señalización NF- κ B, al unirse a estos receptores, lo cual es crucial para los procesos inmunitarios e inflamatorios.⁴⁴ Sin embargo, nuestros resultados experimentales no demostraron ningún impacto de los cambios en la expresión de HMGB1 e IL-1 β en los niveles de los receptores TLR4 e IL-1 β , lo que puede atribuirse a varios factores. Por un lado, los efectos de la HMGB1 pueden estar mediados por otros receptores o vías reguladoras no examinadas en este estudio, en lugar de depender únicamente de los receptores TLR4 e IL-1 β . Por ejemplo, la HMGB1 puede interactuar con otros receptores, como el receptor de productos finales de la glicación avanzada,⁴² para activar vías de señalización alternativas, regulando así indirectamente las respuestas inmunitarias y los procesos inflamatorios. Además, la interacción entre HMGB1 y sus receptores podría no limitarse a cambios en la expresión génica, sino que también podría implicar la regulación de la función del receptor mediante modificaciones postraduccionales, lo cual requiere análisis y experimentos más detallados. El tratamiento con anticuerpos anti-HMGB1 y anti-IL-1 β demostró efectos terapéuticos prometedores en el modelo animal epiléptico. Cabe destacar que la inflamación inducida por HMGB1 a través de la vía IL-1 β parece promover la actividad convulsiva.

Limitación

Este estudio tuvo limitaciones. En primer lugar, el tamaño de la muestra sigue siendo limitado debido a la baja prevalencia de la epilepsia relacionada con la CET y al número relativamente pequeño de pacientes sometidos a... Cirugía resectiva. El tamaño limitado de la muestra podría afectar la generalización de los hallazgos. y la potencia estadística de los resultados. Además, es posible que la pequeña cohorte no capture completamente la heterogeneidad de la epilepsia relacionada con la CET en términos de gravedad, comorbilidades y Respuesta al tratamiento. Para abordar esta limitación, la investigación futura podría incluir estudios multicéntricos o estudios de cohorte a gran escala para aumentar el tamaño de la muestra y mejorar la diversidad. de los participantes. En segundo lugar, en el modelo animal, no investigamos a fondo el comportamiento intracelular. Mecanismos de translocación de HMGB1 en la epilepsia, que serán el foco de futuras investigaciones. investigación.

Direcciones futuras

Las investigaciones futuras deberían centrarse en esclarecer el papel de la HMGB1 y la IL-1 β en la neuroinflamación crónica en la epilepsia relacionada con la CET. Investigar la dinámica de la translocación y liberación de la HMGB1 durante la epileptogénesis podría ayudar a identificarla como un biomarcador temprano. para la epilepsia. La interrupción del ciclo inflamatorio HMGB1-IL-1 β también puede presentar nuevas Oportunidades terapéuticas. El desarrollo de inhibidores para bloquear la liberación de HMGB1 o su interacción con las vías posteriores podría romper este ciclo autopropagante y reducir Tanto la frecuencia como la gravedad de las convulsiones. Además, explorar la intervención temprana y las estrategias preventivas para regular la expresión y la función de HMGB1 podrían retrasar la aparición de la epilepsia, ralentizar la progresión de la enfermedad y mejorar el desarrollo neurológico. Investigando El papel de otras citocinas proinflamatorias o factores de transcripción, y sus interacciones con los sistemas de neurotransmisores excitatorios, podrían mejorar nuestra comprensión de la fisiopatología de la epilepsia. Estos estudios podrían proporcionar nuevas estrategias preventivas y terapéuticas. Estrategias para la epilepsia y otros trastornos neurológicos con potencial clínico significativo.

Conclusión

La interferencia de HMGB1 e IL-1 β podría reducir significativamente la frecuencia de las crisis convulsivas. Además, las crisis epilépticas actúan como desencadenantes clave de la translocación de HMGB1 y su posterior liberación al citoplasma. Es probable que HMGB1 regule...

IL-1 β a través de una vía de señalización específica. Basándose en la investigación de sus mecanismos antiinflamatorios, HMGB1 emerge como un posible biomarcador de resistencia a fármacos.

La epilepsia es un objetivo prometedor para las terapias antiepilépticas.

Reconocimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a los pacientes y sus familias por su apoyo a largo plazo. Cooperación. También agradecemos la contribución de las siguientes personas: Wanshan Xu y Wenyan Zhang en el Instituto de Pediatría de Beijing.

Identificadores de ORCID

Suhui Kuang <https://orcid.org/0009-0005-1945-3450> Tinghong Liu
<https://orcid.org/0000-0003-0156-7490> Liu Yuan <https://orcid.org/0009-0007-3932-5610> Jinshan Xu <https://orcid.org/0009-0006-5078-8301> Yangshuo Wang <https://orcid.org/0000-0002-4172-6081> Peng Chen <https://orcid.org/0000-0001-7410-0926>
Shuli Liang <https://orcid.org/0000-0002-7292-745X>

Consideraciones éticas

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Infantil de Pekín, Universidad Médica Capital ([2022]-E-022-Y; 25 de enero de 2022), y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada paciente. El cuidado y la utilización de los ratones se llevaron a cabo según un protocolo veterinario aprobado por SPF (Beijing) Biotechnology Co., Ltd (AWE 2023011101; 11 de enero de 2023).

Contribuciones del autor

Redacción de KS, LS y LT: borrador original, selección de datos y metodología. Conceptualización de LS y KS. Redacción de YL y XJ: revisión, edición y selección de datos. Redacción de WY y CF: revisión, edición y recursos. Todos los autores han leído y aceptado la versión del manuscrito que se enviará.

Financiación:

El/los autor(es) declararon haber recibido el siguiente apoyo financiero para la investigación, autoría y/o publicación de este artículo: Esta investigación fue financiada por la Fundación de Naturaleza y Ciencia de Beijing de China (7202045, SL Liang) y la Fundación Nacional de Naturaleza y Ciencia de China (82071448, SL Liang). Dichos fondos no incluyeron el diseño del estudio, la recopilación y el análisis de datos, la interpretación de los mismos ni la redacción del informe.

Declaración de conflictos de intereses El/los

autor(es) declararon no tener ningún conflicto de intereses potencial con respecto a la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Declaración de disponibilidad de datos

Los autores pondrán a disposición los datos brutos que respaldan las conclusiones de este artículo, sin reservas indebidadas.

Material complementario El

material complementario de este artículo está disponible en línea.

Referencias

1. Curatolo P, Specchio N y Aronica E. Avances en la genética y neuropatología del complejo de esclerosis tuberosa: cada vez más cerca de la terapia dirigida. *Lancet Neurol* 2022; 21: 843–856.

2. Yu X, Ding P, Yuan L, et al. Potenciales evocados corticocorticales en niños con complejo de esclerosis tuberosa mediante estereoelectroencefalografía. *Front Neurol* 2019; 10: 1093.
3. Gupta A, Bruyn GD, Tousseyn S, et al. Epilepsia y comorbilidades del neurodesarrollo en el complejo de esclerosis tuberosa: un estudio de la historia natural. *Pediatr Neurol* 2020; 106: 10–16.
4. Jansen FE, Huffelen AC, Algra A, et al. Cirugía de la epilepsia en la esclerosis tuberosa: una revisión sistemática. *Epilepsia* 2007; 48: 1477–1484.
5. Liang S, Zhang J, Yang Z, et al. Resultados a largo plazo de la cirugía de epilepsia en el complejo de esclerosis tuberosa. *J Neurol* 2017; 264: 1146–1154.
6. Liu S, Yu T, Guan Y, et al. Cirugía resectiva de la epilepsia en el complejo de esclerosis tuberosa: un estudio retrospectivo multicéntrico a nivel nacional en China. *Brain* 2020; 143: 570–581.
7. Rovira À, Ruiz-Falcó ML, García-Esparza E, et al. Recomendaciones para el diagnóstico radiológico y el seguimiento de las anomalías neuropatológicas asociadas al complejo de esclerosis tuberosa. *J Neuro-Oncol* 2014; 118: 205–223.
8. Jansen FE, Huffelen AC, Bourez-Swart M, et al. Localización consistente de la actividad epileptiforme interictal en el EEG de pacientes con complejo de esclerosis tuberosa. *Epilepsia* 2005; 46: 415–419.
9. Vliet EAV, Aronica E, Vezzani A, et al. Revisión: Vías neuroinflamatorias como dianas terapéuticas y candidatos a biomarcadores en la epilepsia: evidencia emergente de estudios preclínicos y clínicos. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2018; 44: 91–111.
10. Korff CM y Dale RC. El sistema inmunitario en las convulsiones y epilepsias pediátricas. *Pediatría*. 2017; 140: e20163534.
11. Kamaşak T, Dilber B, Yaman SÖ, et al. HMGB-1, TLR4, IL-1R1, TNF- α e IL-1 β : una novela ¿Marcadores de epilepsia? *Trastorno epiléptico* 2020; 22: 183–193.
12. Coleman LG, Zou J y Crews FT. El miRNA derivado de la microglía let-7 y HMGB1 contribuye a la neurotoxicidad inducida por etanol a través de TLR7. *J Neuroinflammation* 2017; 14: 22.
13. Chen Y, Chen X y Liang Y. Metaanálisis de los niveles de HMGB1 en el líquido cefalorraquídeo y Suero de pacientes con epilepsia. *Neurol Sci* 2023; 44: 2329–2337.
14. Shi Y, Zhang L, Teng J, et al. HMGB1 media la activación de la microglía a través de la vía TLR4/NF- κ B en la epilepsia inducida por lactonas de coriaria. *Mol Med Rep* 2018; 17: 5125–5131.
15. Paudel YN, Semple BD, Jones NC, et al. El grupo de alta movilidad 1 (HMGB1) como una nueva frontera en la epileptogénesis: de la patogénesis a los enfoques terapéuticos. *J Neurochem* 2019; 151: 542–557.
16. Barseem NF, Khattab ESAEH y Mahasab MM. Asociación de los marcadores genéticos IL-1 β -31/IL1-RA con la epilepsia generalizada idiopática y la respuesta al tratamiento en una cohorte de población egipcia. *Revista Internacional de Neurociencia* 2020; 130: 348–354.
17. Kostic D, Carlson R, Henke D, et al. Evaluación de los niveles de IL-1 β en la epilepsia y el traumatismo craneoencefálico canino. *BMC Neurosci* 2019; 20: 29.
18. Dai SJ, Shao YY, Zheng Y, et al. El inflacromeno atenúa la gravedad de las convulsiones en modelos de epilepsia murina mediante la inhibición de la translocación de HMGB1. *Acta Pharmacol Sin* 2023; 44: 1737–1747.
19. Northrup H, Aronow ME, Bebin EM, et al. Criterios diagnósticos internacionales actualizados del complejo de esclerosis tuberosa y recomendaciones de vigilancia y manejo. *Pediatr Neurol* 2021; 123: 50–66.
20. Wang Y, Yuan L, Zhang S, et al. Ondulaciones rápidas como biomarcador de la tuberosidad epileptogénica en pacientes con esclerosis tuberosa compleja mediante estereoelectroencefalografía. *Front Hum Neurosci* 2021; 15: 680295.

21. Rensing N, Johnson KJ, Foutz TJ, et al. Anomalías del desarrollo temprano en la electroencefalografía, convulsiones neonatales y espasmos inducidos en un modelo murino de esclerosis tuberosa. *Epilepsia* 2020; 61: 879–891.
 22. Sert NPD, Hurst V, Ahluwalia A, et al. Las directrices ARRIVE 2.0: directrices actualizadas para Informes de investigación con animales. *Br J Pharmacol* 2020; 177: 3617–3624.
 23. Zhang J, Takahashi HK, Liu K, et al. El anticuerpo monoclonal anti-caja de grupo de alta movilidad 1 protege la barrera hematoencefálica de la disrupción inducida por isquemia en ratas. *Stroke* 2011; 42: 1420–1428.
 24. Andrassy M, Volz HC, Igwe JC, et al. Grupo de alta movilidad 1 en isquemia-reperusión. Lesión cardíaca. *Circulación* 2008; 117: 3216–3226.
 25. Weehuizen TAF, Lankelma JM, Jong HKD, et al. La administración terapéutica de un anticuerpo monoclonal anti-IL-1 β protege contra la melioidosis experimental. *Shock* 2016; 46: 566–574.
 26. Wang Y, Wang Y, Sun R, et al. El valor terapéutico del anticuerpo monoclonal IL-1 β bajo la localización de alfa-metil-L-triptófano y nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro en un modelo de epilepsia aguda del lóbulo temporal. *J Transl Med* 2018; 16: 37.
 27. Wu L, Qin Y, Yuan H, et al. Efectos antiinflamatorios y neuroprotectores de la sobreexpresión del factor de crecimiento similar a la insulina-1 en un modelo murino de epilepsia crónica inducida por pentilentetrazol (PTZ). *Brain Res* 2022; 1785: 147881.
 28. Zhu H, Xu H, Ma H, et al. El lncRNA CASC2 inhibe la activación astrocítica y el metabolismo de la adenosina mediante la regulación de PTEN en un modelo de epilepsia inducida por pentilentetrazol. *J Chem Neuroanat* 2020; 105: 101749.
 29. Liang S, Zhang L, Yu X, et al. Efecto neuroprotector del tratamiento de conducción eléctrica sobre la apoptosis de células hipocámpales en ratas con epilepsia aguda del lóbulo temporal inducida por KA. *Brain Stimul* 2016; 9: 933–939.
 30. Scheidenhelm DK y Gutmann DH. Modelos murinos del complejo de esclerosis tuberosa. *J Child Neurol* 2004; 19: 726–733.
 31. Cuidado de animales de laboratorio. Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Publicación 2011; 327: 963–965.
 32. Curatolo P, Nabbut R, Lagae L, et al. Manejo de la epilepsia asociada al complejo de esclerosis tuberosa: recomendaciones clínicas actualizadas. *Eur J Paediatr Neurol* 2018; 22: 738–748.
 33. Yuan L, Wang Y, Cheng S, et al. Patrón de descarga interictal en niños preescolares con complejo de esclerosis tuberosa antes y después de la cirugía resectiva de epilepsia. *Front Neurol* 2022; 13: 868633.
- [PubMed] 34. Baldassari S, Ribierre T, Marsan E, et al. Disección de la base genética de la displasia cortical focal. *Acta Neuropathol* 2019; 138: 885–900.
35. Jesus-Ribeiro J, Pires LM, Melo JD, et al. Avances genómicos y epigenéticos en la displasia cortical focal tipos I y II: una revisión exploratoria. *Front Neurosci* 2021; 14: 580357.
 36. Fuso A, Iyer AM, Scheppingen JV, et al. La hipometilación específica del promotor se correlaciona con la sobreexpresión de IL-1 β en el complejo de esclerosis tuberosa (TSC). *J Mol Neurosci* 2016; 59: 464–470.
 37. Zhang B, Zou J, Rensing NR, et al. Los mecanismos inflamatorios contribuyen a las manifestaciones neurológicas del complejo de esclerosis tuberosa. *Neurobiol Dis* 2015; 80: 70–79.
 38. Zaben M, Haan N, Sharouf F, et al. IL-1 β y HMGB1 son antineurogénicas para las células madre neurales endógenas en el hipocampo humano epiléptico esclerótico. *J Neuroinflammation* 2021; 18: 18.

39. Zeng LH, Rensing NR, Zhang B, et al. La inactivación del gen Tsc2 causa un fenotipo de epilepsia más grave que la inactivación de Tsc1 en un modelo murino de esclerosis tuberosa. *Hum Mol Genet* 2011; 20: 445–454.
40. Feliciano DM. La patogénesis del neurodesarrollo del complejo de esclerosis tuberosa (TSC). *Frente Neuroanat* 2020;14:39.
41. Wen Q, Liu J, Kang R, et al. Liberación y actividad de HMGB1 en la ferroptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 510: 278–283.
42. Fan H, Tang HB, Chen Z, et al. La inhibición del eje HMGB1-RAGE previene la polarización proinflamatoria de macrófagos/microglía y proporciona neuroprotección tras una lesión medular. *J Neuroinflammation* 2020; 17: 95.
43. Huang L, Gong L, Huo X, et al. El dímero de N-acetildopamina inhibe la neuroinflamación a través de las vías TLR4/NF-κB y NLRP3/caspasa-1. *Acta Biochim Biophys Sin* 2022; 55: 23–33.
44. Fu Y, Xiang Y, Wang Y, et al. La vía STAT1/HMGB1/NF-κB en la inflamación crónica y la lesión renal tras la exposición a cisplatino. *Theranostics* 2023; 13: 2757–2773.