



División de ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura Química Farmacéutica Biológica

Protocolo específico

Estudios de metalotioneína en epilepsia del lóbulo temporal.

Proyecto genérico

Evaluación de productos relacionados con la salud.

Etapas

Evaluación fármaco toxicológica de compuestos activos.

Alumna

Bautista Bautista Hannia / 2173082296

Asesores Internos:

Dra. Tomasa Verónica Barón Flores, No. Eco. 26848

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda, No. Eco. 16190

Fecha de inicio: 10 de enero de 2022

Fecha de término: 10 de julio de 2022

Estudios de metalotioneína en epilepsia del lóbulo temporal

Proyecto genérico: Evaluación de productos relacionados con la salud.

Etapas: Evaluación fármaco toxicológica de compuestos activos.

Introducción

Alrededor del mundo la epilepsia es una de las enfermedades neurológicas más comunes que afecta a personas de todas las edades, razas, clases sociales y ubicaciones geográficas. Siendo una enfermedad caracterizada por la predisposición de una persona a presentar crisis convulsivas no provocadas a repetición (Gomez, 2017). Cada año hay dos millones de nuevos casos en el mundo. Los estudios indican que la incidencia anual en los países desarrollados es de aproximadamente 50 por 100.000 habitantes, mientras que en los países en desarrollo esta cifra es casi el doble (cerca de 100 por 100.000) (PAHO, 2018).

Por otra parte, la epilepsia del lóbulo temporal es el tipo de epilepsia focal de más alta incidencia demostrada en estudios epidemiológicos en centros especializados en el manejo de esta patología (Gomez, 2017). Debido a convulsiones no provocadas que se originan en el lóbulo temporal. La intensa actividad neuronal durante las convulsiones puede liberar altas cantidades de zinc en la hendidura sináptica, promoviendo así, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), llegando a conducir la muerte neuronal del hipocampo (Peixoto, *et al.*, 2017).

Por lo que, las metalotioneínas (MT) son proteínas ricas en cisteína que se unen a metales de pequeño peso molecular (como zinc, cobre, cadmio) que participan en el mantenimiento de la estructura de los tejidos, el metabolismo eficaz de los metales y su desintoxicación, así como también, tienen un efecto antioxidante (Nakamura, *et al.*, 2018). Por lo que las MT son blanco para el diagnóstico de nuevas estrategias terapéuticas.

Antecedentes

Las metalotioneínas (MT) representan una superfamilia de proteínas que existen en muchos organismos, desde procariotas hasta vertebrados. Es rico en residuos de cisteína (Cys) (casi el 30 %), constituyendo los grupos de tiolato de metal. (Ragusa, *et al.* 2017). En humanos las MT tienen cuatro isoformas, designadas como MT1, MT2, MT3 y MT4. Cada subtipo se distribuye diferencialmente en los tejidos. Son proteínas que se unen o liberan metales de transición celular, en el que, su interacción juega un papel importante para las funciones celulares específicas, como la proliferación celular, la diferenciación, apoptosis y la respuesta inmunitaria. Los MT tienen una gran afinidad por el zinc y el cobre, y su estructura puede cambiar según el número de metales enlazados, lo que contribuye a las diferencias funcionales. MT1 y MT2 se encuentran de forma ubicua en una amplia gama de

órganos; sin embargo, MT3 y MT4 se expresan específicamente en el sistema nervioso central y en el epitelio escamoso estratificado (Koh & Lee, 2020). Se sabe que los MT exhiben una pléthora de funciones biológicas, incluida la protección contra la toxicidad de los metales, el control del estrés oxidativo y la regulación de la homeostasis fisiológica (Ragusa, *et al.*, 2017).

El papel de la MT en el sistema nervioso central (SNC) ha mostrado su participación en diversos mecanismos celulares como la protección contra el estrés oxidativo, regulación de mecanismos homeostáticos del Zn, detoxificación de metales pesados y regulación de factores en procesos inflamatorios. Así como también, los MT afectan las enfermedades neurodegenerativas, como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), la atrofia muscular espinal (AME), esclerosis múltiple (MS), Alzheimer, Pick, Creutzfeld-Jacob, y el envejecimiento (Juárez & Méndez, 2014).

Se reconoce que el estrés oxidativo desempeña un papel contribuyente en varios trastornos neurológicos y, más recientemente, se ha implicado en las epilepsias adquiridas. Las MT ocurren en varias regiones del cerebro y pueden servir como proteínas neuroprotectoras contra las especies reactivas de oxígeno que causan estrés y daño oxidativo (Juárez, *et al.*, 2017). Por otra parte, la epilepsia es un trastorno neurológico que se ha asociado con el estrés oxidativo (Juárez, *et al.*, 2015). De acuerdo a la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) es una enfermedad cerebral causando al menos dos convulsiones no provocadas que ocurren con más de 24 horas de diferencia (Leong Tung Ong, 2019). Cabe resaltar que, el lóbulo temporal es la región más epileptogénica del cerebro humano y el sitio más común del síndrome epiléptico llamado epilepsia del lóbulo temporal mesial (Liborio dos Santos, *et al.*, 2017). Generalmente la epilepsia del lóbulo temporal se puede dividir de acuerdo con su área sintomatológica y manifestaciones clínicas en dos grandes grupos: epilepsia del lóbulo temporal mesial y lateral (neocortical) (Gomez, 2017).

La principal causa de la epilepsia del lóbulo temporal es la hiperexcitabilidad neuronal debida a la presencia de cambios patológicos en el lóbulo temporal del cerebro como pérdida neuronal, mutación, dispersión de células granulares y malformaciones del desarrollo cortical (Leong Tung Ong, 2019).

Objetivo general

- Realizar una búsqueda bibliográfica sobre estudios de la metalotioneína en la epilepsia del lóbulo temporal.

Objetivos específicos

- Investigar las características de las metalotioneínas y su función en el sistema nervioso central (SNC).
- Buscar información referente sobre la epilepsia del lóbulo temporal.
- Analizar la función de las metalotioneínas en la epilepsia del lóbulo temporal.

Metodología

El presente trabajo de investigación se realizará de manera bibliográfica consultando fuentes de base de datos tales como: Pubmed, NCBI, SciELO, ELSEVIER, BIDIUAM. Google Académico, etc. En el cual, para la búsqueda de información se utilizarán palabras clave como: metalotioneína, epilepsia, epilepsia del lóbulo temporal, SNC, estrés oxidativo, etc. Posteriormente, con la información recopilada se realizará un análisis y discusión del tema sobre los aspectos más relevantes del mismo.

Marco teórico

Epilepsia del lóbulo temporal

La epilepsia es una afección cerebral que se manifiesta por convulsiones espontáneas periódicas provocadas por la hiperexcitabilidad e hipersincronización de las neuronas cerebrales (Guliaeva, 2021), afectando así, a unos 70 millones de personas a nivel mundial. De acuerdo con la ILAE (Liga Internacional Contra la Epilepsia), define la epilepsia como un trastorno del cerebro caracterizado por una predisposición duradera a generar crisis convulsivas que estas a su vez, pueden ser de diferente tipo reflejando la disfunción de una región de la corteza cerebral. (García, 2010).

Por otro lado, la Epilepsia del Lóbulo Temporal (ELT) es el tipo más frecuente de las epilepsias crónicas parciales y refractaria al tratamiento médico en el adulto, además de que son farmacorresistentes en aproximadamente un tercio de los pacientes (MJ van Loo, et al. 2015). Por lo general, las convulsiones del lóbulo temporal tienden a ser más prolongadas (hasta 2 a 3 min) y menos frecuentes, cuya característica es que las crisis se inician en cualquier parte del lóbulo temporal y en el que se involucran diferentes procesos celulares y moleculares de distintas redes

neuronales tanto corticales como subcorticales (Lopez & Hugo, 2020).

La epilepsia del lóbulo temporal se puede subdividir en dos categorías según el origen anatómico del foco epiléptico:

→ Epilepsia del lóbulo temporal mesial (MTLE)

Involucra la anatomía de la estructura más interna del lóbulo temporal, incluido el hipocampo, la circunvolución parahipocampal y la amígdala; esta es la forma más común de convulsiones y suele ser secundaria a un proceso patológico conocido como esclerosis del hipocampo (HS)(McIntosh & Das, 2021).

Este tipo de epilepsia es el más frecuente, representando entre el 50%-76% de todos los casos evaluados para la cirugía de epilepsia (Perven, et al. 2021).

→ Epilepsia del lóbulo temporal lateral (LTLE)

Conocidas como convulsiones del lóbulo temporal neocortical. La mTLE es el subtipo más común y las convulsiones se originan en el hipocampo, la corteza entorrinal, la amígdala y la circunvolución parahipocampal. Las estructuras cerebrales involucradas en la nTLE son la neocorteza temporal que incluye las circunvoluciones temporales superior, medial e inferior, las uniones temporal-occipital y temporal-parietal y las áreas sensoriales asociativas para las funciones auditivas, visuales y del lenguaje (Vinti, et al. 2021).

Los síntomas de la epilepsia del lóbulo temporal incluyen las siguientes:

- Convulsiones focales conscientes: conocidas como auras, en el que incluyen síntomas sensoriales especiales, como los que ocurren en el sistema auditivo, olfativo, gustativo y visceral. De igual manera, pueden manifestarse con eventos autonómicos, somatosensoriales y cognitivos como "deja vu" y "jamais vu". Síntomas emocionales, como el miedo o la ansiedad, también son posibles.
- Convulsiones focales con alteración de la conciencia: Provoca una pérdida de la conciencia. El paciente puede presentar mirada inmóvil, pupilas dilatadas y automatismos como en la musculatura facial-oral o posturas distónicas unilaterales de las extremidades.

Las convulsiones focales pueden extenderse para afectar ambos hemisferios

cerebrales y con frecuencia se manifiestan con convulsiones tónico-clónicas bilaterales. Como también pueden estar asociadas con un período postictal, que puede manifestarse con confusión, afasia y/o amnesia (McIntosh & Das, 2021).

Teniendo en cuenta que la epilepsia es un trastorno neurológico, el estrés oxidativo y nitrosativo han desempeñado un papel factorial debido a la hiperexcitación neuronal prolongada y la pérdida de neuronas durante las convulsiones que causan disfunción celular. Estudios han demostrado la relación entre la epilepsia y el estrés oxidativo, debido a la generación de radicales libres que pueden conducir a convulsiones prolongadas como también a una disfunción mitocondrial (que al alterarse produce una excesiva cantidad de radicales libres con una síntesis alterada de antioxidantes (Mendez, *et al.*, 2014)) en el hipocampo que precede a la muerte de las células neuronales provocando así la epileptogénesis. (Rebollar, *et al.*, 2017).

Cabe destacar que las descargas epilépticas prolongadas podrían conducir a una gran cantidad de cambios y cascadas de eventos a nivel celular (Chuang, 2010) dado que las mitocondrias tienen funciones celulares críticas que influyen en la excitabilidad neuronal, incluida la producción de trifosfato de adenosina (ATP), la oxidación de ácidos grasos, el control de la apoptosis y la necrosis, la regulación del ciclo de aminoácidos, la síntesis de neurotransmisores y la regulación de la homeostasis del Ca^{2+} citosólico. Como bien sabemos, las mitocondrias son el sitio principal de producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que las hace especialmente vulnerables al estrés oxidativo y al daño que puede afectar aún más la función de las macromoléculas celulares, la capacidad de la cadena de transporte de electrones para producir ATP, las defensas antioxidantes, la estabilidad del ADN mitocondrial y la homeostasis del glutamato sináptico. Entonces el daño oxidativo puede afectar la excitabilidad neuronal y aumentar la susceptibilidad a las convulsiones (Waldbaum & Pater, 2009). Es importante destacar que el estrés oxidativo juega un papel importante en varios trastornos neurológicos (en este caso la epilepsia). En estos últimos años, diversos estudios han demostrado que las MT pueden servir como proteínas neuroprotectoras contra las ROS que causan el daño oxidativo (Rebollar, *et al.*, 2017).

Metalotioneínas (MT) y su función en la epilepsia del lóbulo temporal.

Las metalotioneínas (MT) son un grupo de proteínas universales de bajo peso molecular. La secuencia principal de esta familia de proteínas pequeñas (~6 kDa) consiste en un 30% de residuos de cisteína (Wong & Stillman, 2018) distribuidas ampliamente en casi todos los principales grupos taxonómicos. (Chatterjee, *et al.*, 2020).

Los MT tienen una gran afinidad por el zinc y el cobre, y su estructura puede cambiar según el número de metales enlazados, lo que contribuye a las diferencias

funcionales. En los seres humanos las MT cuentan con cuatro isoformas designadas como MT1, MT2, MT3 y MT4. Las MT1 y MT2 se encuentran de forma ubicua en una amplia gama de órganos; sin embargo, MT3 y MT4 se expresan específicamente en el sistema nervioso central y el epitelio escamoso estratificado. Recientemente, se informó que MT3 tiene ciertas funciones específicas en tejidos distintos del cerebro ya que mantiene la homeostasis del cobre y el zinc en las células, al igual que otras MT, protegiendo a las células del estrés oxidativo y regulando el crecimiento celular, la diferenciación y otras funciones celulares normales (Koh & Lee, 2020).

Teniendo en cuenta que el estrés oxidativo desempeña un papel contribuyente en varios trastornos neurológicos y, más recientemente, se ha implicado en las epilepsias (haciendo referencia a la epilepsia del lóbulo temporal (ELT)) y como bien sabemos las MT ocurren en varias regiones del cerebro y estas a su vez pueden servir como proteínas neuroprotectoras contra las especies reactivas de oxígeno que causan estrés y daño oxidativo (Juárez, *et al.*, 2017).

Hay que tener en cuenta que el cerebro es altamente susceptible al estrés oxidativo debido a los altos niveles de consumo de oxígeno, por lo que el papel de la MT como proteína protectora frente a estos procesos es muy importante mantener la homeostasis intracelular del Zn, que es una de las funciones principales de esta proteína ya que el cerebro contiene altos niveles de la misma, lo que demuestra la importancia de la MT en el sistema nervioso central (Juárez, *et al.*, 2017) como también para afectar las enfermedades neurodegenerativas como en este caso la ELT, ya que el zinc se libera junto con el glutamato durante la neurotransmisión y, en exceso, puede promover la muerte neuronal. Estudios experimentales han demostrado que las MT1 y MT2, que quelan el zinc libre, pueden afectar las convulsiones y reducir la muerte neuronal después del estado epiléptico (Peixoto, *et al.*, 2012). Como también pueden modular la neurotransmisión glutamatérgica. (Kandratavicius, 2015). Por lo regular las MT son proteínas que se expresan predominantemente en el citoplasma celular, las mitocondrias y los lisosomas, dentro de los astrocitos, las células, las células meníngeas, las células endoteliales, la coroides, la aracnoides y la piamadre (Juárez, *et al.*, 2017).

Las MT1 y MT2 se regulan de manera coordinada, su síntesis puede ser inducida por una diversa variedad de estímulos, como condiciones de estrés, niveles de glucocorticoides, citocinas, ROS e iones metálicos, que se ha informado que ocurren a través de varias regiones del sistema nervioso central (corteza, tronco encefálico, médula espinal, tálamo, hipocampo, prosencéfalo basal, neocórtex, núcleos de nervios craneales, bulbo olfativo y cerebelo) (Juárez, *et al.*, 2017).

Las anomalías relacionadas con la neuroinflamación, como la patología glial, la desregulación del glutamato y la disfunción de la barrera hematoencefálica, se encuentran no solo en la epilepsia, sino también en la esquizofrenia y la depresión. (Kandratavicius, 2015).

Como se mencionó anteriormente, durante algunas décadas se ha estudiado la función de las metalotioneínas en la epilepsia del lóbulo temporal, que lamentablemente se caracteriza por convulsiones resistentes al tratamiento de farmacorresistentes. Siendo una enfermedad neurodegenerativa es que su histopatología se investiga a través de la esclerosis del hipocampo en adultos, por lo que esto ayuda a tener información para analizar las lesiones histopatológicas como consecuencia de la ELT (Jing, *et al.*, 2022). De tal manera que en este presente trabajo se recopilaron algunos de los modelos de estudio de la MT en la ELT.

Estudios de MT inducida por ácido kaínico.

En este estudio se examinó la neuroprotección inducida por MT durante la excitotoxicidad inducida por ácido kaínico (KA) mediante el modelo de ratones transgénicos con sobreexpresión de MT1 (ratones TgMT). El KA induce ataques epilépticos y excitotoxicidad del hipocampo, seguidos de inflamación y daño cerebral retardado. Se mostró que por primera vez que a pesar de que los ratones TgMT eran más susceptibles a KA, la sobreexpresión cerebral de MT1 disminuye la inflamación del hipocampo y retrasar la degeneración neuronal y la muerte celular medida 3 días después de la administración de KA. Por lo tanto, las respuestas proinflamatorias de microglía y/o macrófagos, linfocitos y su expresión de interleucina (IL)-1, IL-6, IL-12, factor de necrosis tumoral- α y metaloproteinasas de matriz (MMP-3, MMP-9) se redujeron significativamente en los hipocampos de ratones TgMT en relación con ratones de tipo salvaje. Tres días después de la inducción de KA, los ratones TgMT mostraron un daño retardado significativamente menor, de estrés oxidativo, de neurodegeneración y muerte celular apoptótica. Esto podría deberse a las acciones antiinflamatorias y antioxidantes de MT1, como también a los efectos directos en las neuronas, ya que se detectó una presencia significativa de MT extracelular. También la sobreexpresión de MT I estimuló la astrogliosis y aumentó la inmunotinción de IL-10 antiinflamatorio, factores de crecimiento y neurotrofinas en hipocampo. Cabe resaltar que, MT1 tiene diferentes funciones que contribuyan a una mayor supervivencia de las neuronas y una mejor condición del SNC de los ratones TgMT. Los datos de las observaciones de este estudio aportan nuevos conocimientos sobre la neuroprotección inducida por MT e indican que la terapia con MT1 podría usarse contra los trastornos neurológicos, en este caso con la ELT (Penkowa, *et al.*, 2005).

De igual forma, también se han realizado estudios en modelos de ácido kaínico y pentilentetrazol demostrando un aumento de la inmunorreactividad de la metalotioneína y la nitrotirosina. Dado que los niveles de expresión de la MT aumentaron, debido a que está relacionado con los tratamientos de ácido kaínico y pentilentetrazol como respuesta al daño mediado por estrés oxidativo (Manjarrez, *et al.*, 2015).

Estudios de astrogliosis

Los astrocitos son de gran importancia en el metabolismo energético, la estabilización de los neurotransmisores y la formación de redes en el cerebro. Nos referimos a la astrogliosis como un aumento patológico en el número de astrocitos, produciendo cambios morfológicos y de comportamiento (You, *et al.*, 2022) respondiendo al daño y a las enfermedades del SNC a través de un proceso llamado astrogliosis (Michael, 2015).

En consecuencia, la astrogliosis se considera una característica patológica de la ELT. De tal manera que para evaluar más a fondo la patogenia de dicha enfermedad y la proliferación de astrocitos, se examinó los cambios en tres proteínas en los astrocitos, incluida la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), la MT y la acuaporina-4 (AQP4), en pacientes con mTLE. Estas tres proteínas son indicadoras de astrocitosis, y se planteó la hipótesis de que los niveles de expresión de estas tres proteínas difieren entre los pacientes con mTLE y las personas sanas. En este estudio se reclutaron tres grupos de 30 pacientes con mTLE en el grupo experimental y cinco personas sanas en el grupo de control. Se utilizaron muestras de hipocampo de los pacientes que se cortaron en secciones de 50 μm para su análisis. Por consiguiente utilizaron la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), con ello mostraron que los niveles de expresión de GFAP, MT 1/2 y AQP4 en pacientes con mTLE eran significativamente más altos que los del grupo de control. Por otro lado, a través de la detección de inmunofluorescencia encontraron que las señales de estas tres proteínas eran más altas en pacientes con mTLE que en el grupo de control. Demostrando así que las GFAP, MT 1/2 y AQP4 son indicadores importantes de astrogliosis. En este estudio se confirmó que los niveles de estas tres proteínas en pacientes con mTLE son más altos que en personas sanas, demostrando que estos tres indicadores proteicos de astrocitosis se pueden utilizar como puntos de entrada en el tratamiento de mTLE (You, *et al.*, 2022).

Aumento de la expresión de MT I y II en el hipocampo.

En este estudio se evaluaron hipocampos de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal mesial farmacorresistente y pacientes con ELT asociada con tumor o displasia para poder determinar la expresión de MT1 y 2, así como también, los niveles vesiculares del zinc, los niveles neuronales, la astrogliosis y las poblaciones microgliales. Demostrando que los resultados de los análisis de correlación y de regresión lineal indican un aumento de la MT1 y 2 y el aumento de astrogliosis en hipocampos de pacientes con ELT. Se estima que, esto se debe a que las MT pueden estar asociadas con la astrogliosis (Peixoto, *et al.*, 2012).

También hay estudios que se han enfatizado en la localización inmunohistoquímica de la MT en las muestras derivadas de los pacientes afectados por ELT. En el que se realiza un examen histopatológico mostrando así células inmunopositivas para NeuN (proteína nuclear neuronal), GFAP (Proteína ácida fibrilar glial) y MT que se analizaron para determinaciones en muestras de hipocampo y corteza parietal mostrando que las MT pueden servir como proteínas neuroprotectoras contra las ROS que causan daño oxidativo debido a la observación de gliosis reactiva asociada con una mayor expresión de MT en pacientes con ELT (Juárez, *et al.*, 2017).

Discusión y Análisis de la información.

A grandes rasgos se sabe que las convulsiones alteran muchos procesos químicos y biofísicos en el sistema nervioso central y hay varios estudios que indican que la formación de especies reactivas de oxígeno y el estrés oxidativo celular tienen un papel importante en las crisis convulsivas de la epilepsia (Parsons, *et al.*, 2022). Ahora bien, el cerebro representa la mayor fuente de consumo de energía en el cuerpo humano, representando más del 20% del metabolismo total de oxígeno (Magistretti, *et al.*, 2015). Por ello, se estima que las neuronas consumen entre el 75 y el 80 % de la energía producida en el cerebro (Hyder, *et al.*, 2013), por lo que, el cerebro es un objetivo principal para el estrés oxidativo, y esto abarca en que la epilepsia y el estrés oxidativo también están relacionados con la neuroinflamación (Alyu, *et al.*, 2017). Entonces, estos estudios experimentales han demostrado que las MT1 y 2 que quelan el zinc libre pueden afectar las convulsiones y reducir la muerte neuronal después del estado epiléptico (Koh & Lee, 2020), ya que una de sus funciones es la protección contra el estrés oxidativo en el SNC.

Uno de los estudios que más resalta en cuestión a la función de la MT en la ELT es que Dalton y colaboradores, han demostrado que las ratas tratadas con ácido kaínico (KA) como modelo de epilepsia mostraban daño cerebral grave causado en parte por el estrés oxidativo y por eso mismo descubrieron que KA indujo un aumento en el ARNm de MT1 y hemo oxigenasa-I, así como la inducción de la expresión del gen interleucina 1 β , lo que desencadenó una respuesta inflamatoria en las regiones dañadas del cerebro, lo que sugiere que el estrés oxidativo producido por KA puede inducir convulsiones (Juárez, *et al.*, 2017).

Desde entonces, debido a los modelos experimentales que se han utilizado para descubrir la relación que tiene la MT en la ELT, ayudan a dar paso en el tratamiento de dicha enfermedad.

Conclusión.

A través de los años en base a estos estudios se ha visto un avance significativo para el tratamiento de la ELT en función con la MT. Se ha observado que los medicamentos antiepilépticos no son efectivos en los pacientes que tienen epilepsia, debido a que presentan resistencia. Este presente trabajo nos ayudó a saber el enfoque que tienen las MT en diversas enfermedades neurodegenerativas ya que, como bien sabemos sirven como proteínas neuroprotectoras contra las especies reactivas de oxígeno que precisamente causan estrés y daño oxidativo. Por lo que son un gran objetivo para nuevas dianas terapéuticas. Por otra parte, aún se siguen investigando nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a múltiples grupos de pacientes, ya que toda la información existente se presta a encontrar nuevos métodos para el tratamiento de la epilepsia por el simple hecho de que el estrés oxidativo está asociado sin duda alguna con la propagación de convulsiones.

Bibliografía:

- Alyu, F., Dikmen, M. (2017). Inflammatory aspects of epileptogenesis: Contribution of molecular inflammatory mechanisms. *Acta Neuropsychiatr.* 29(1), 1–16.
- Behi, E. (2019). The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*, 54(2), 185–191.
- Chatterjee, S., Kumari, S., Sonalin, R., Priyadarshanne, M., & Das, S. (2020). Diversity, structure and regulation of microbial metallothionein: metal resistance and possible applications in sequestration of toxic metals. *Metallomics*, 12(11), 1637–1655.
- Chuang, Y.-C. (2010). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in seizure-induced neuronal cell death. *Acta Neurol Taiwan*, 19(1), 3–15.
- Garcia, M., Garcia, I., & Guiu, J. (2010). Modelos experimentales en epilepsia. *ELSEVIER*, 25(3), 181–188.
- Gomez, L., & Lee, J. (2017). Epilepsia del lóbulo temporal. *Neuroeje*, 30(2), 23–30.
- Gulyaeva, N.V. (2021). Stress-Associated Molecular and Cellular Hippocampal Mechanisms Common for Epilepsy and Comorbid Depressive Disorders. *Biochemistry Moscow* 86(1), 641–656.
- Hyder, F., Fulbright, R.K., Shulman, R.G., Rothman, D.L. (2013). Glutamatergic function in the resting awake human brain is supported by uniformly high oxidative energy. *Cereb. Blood Flow Metab*, 3 (1), 339–347.

- Juárez, D., Manjarrez, J., Nava, C., Zaga, V., Flores, P., Heras, Y., Diaz, A., & Mendez, M. (2015). Metallothionein expression in the rat brain following KA and PTZ treatment. *ELSEVIER*, 40(2), 530–534.
- Juárez, D., & Mendez, M. (2014). Aspectos funcionales de la metalotioneína en el sistema nervioso central. *Arch Neurocién (Mex)*, 19(1), 34–41.
- Juárez, D., Venegas, A., Nava, C., Buentello, M., Yescas, P., Diaz, A., Rios, C., & Mendez, M. (2017). Immunohistochemical study of Metallothionein in patients with temporal lobe epilepsy. *ELSEVIER*, 39(1), 87–90.
- Juárez, D., Rios, C., Nava, C., & Mendez, M. (2017). Metallothionein in Brain Disorders. *HINDAWI*, 1(1), 1–12.
- Kandratavicius, L., Peixoto-Santos, J.E., Monteiro, M.R. *et al.* (2015). Mesial temporal lobe epilepsy with psychiatric comorbidities: a place for differential neuroinflammatory interplay. *J Neuroinflammation* 12(38).
- Koh, J. Y., & Lee, S. J. (2020). Metallothionein-3 as a multifunctional player in the control of cellular processes and diseases. *Molecular Brain*, 13(116), 1–12.
- Leong, T. O. (2019). Temporal Lobe Epilepsy – Pathophysiology and Mechanisms. *European Neurological Review*, 14(2), 66–67.
- Libório Dos Santos, A., Mufarrej, G., Oliveira Da Conceição, P., Luiz Da Costa Cruz, P., Dutra, D., Chimelli, L., & Niemeyer, P. (2018). *Neurosurg Cases Rev*, 1(006), 1–8.
- Lopez, M., & Solis, H. (2020). Epilepsia del lóbulo temporal pos-estatus epilepticus por pilocarpina y conexiones hipocampo-talamocorticales. *Archivos de Neurociencias (Mex) INNN*, 25(3), 33–50.
- Magistretti, J.P., Allaman, I. (2015) A cellular perspective on brain energy metabolism and functional imaging. *Neuron*, 4(1), 883–901.
- McIntosh WC, M Das J. (2022). Temporal Convulsión. [Actualizado el 10 de julio de 2021]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): Publicación de StatPearls. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549852/>
- Michael V., S. (2015). Astrogliosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 7(2),
- Pan American Health Organization The Management of Epilepsy in the Public Health Sector, 2018. Washington, D.C.: PAHO; 2018.
- Parsons, A., Bucknor, E., Castroflorio, E., Soares, T., Oliver, P., & Rial, D. (2022). The Interconnected Mechanisms of Oxidative Stress and Neuroinflammation in Epilepsy. *Antioxidants*, 11(1), 1–17.
- Peixoto, J., Galvis, O., Rodrigues, T., Kandratavicius, L., Assirati, J., Carlotti, C., Caldo, R., Neder, L., & Pereir, J. (2012). Increased Metallothionein I/II Expression in Patients with Temporal Lobe Epilepsy. *PLOS ONE*, 7(9), 1–11.
- Penkowa, M., Florit, S., Giralt, M., Molinero, A., Carrasco, J., & Hidalgo, J. (2005). Metallothionein reduces central nervous system inflammation, neurodegeneration, and cell death following kainic acid-induced epileptic seizures. *Journal of Neuroscience Research*, 79(4), 522–534.
- Perven, G., Podkorytova, L., Ding, K., Agostini, M., Alick, S., Das, R., Dave, H., Dieppa, M., Doyle, A., Harvey, J., Lega, B., Zepeda, R., & Hays, R. (2021).

Non-lesional mesial temporal lobe epilepsy requires bilateral invasive evaluation. *ELSEVIER*, 15(1), 100441.

- Ragusa, M. A., Nicosia, A., Costa, S., Cuttitta, A., & Gianguzza, F. (2017). Metallothionein Gene Family in the Sea Urchin *Paracentrotus lividus*: Gene Structure, Differential Expression and Phylogenetic Analysis. *International journal of molecular sciences*, 18(4), 812.
- Van Loo, K., Schaub, C., Pitsch, J. et al. (2015). Zinc regulates a key transcriptional pathway for epileptogenesis via metal-regulatory transcription factor 1. *Nat Commun* 6, 8688.
- Vinti V, Dell'Isola GB, Tascini G, Mencaroni E, Cara GD, Striano P & Verrotti A (2021). Temporal Lobe Epilepsy and Psychiatric Comorbidity. *Front. Neurol.* 12:775781.
- Waldbaum, S, Patel M. (2010). Mitochondria, oxidative stress, and temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 88(1):23-45.
- Wijnen, BFM, van Mastrigt, GAPG, Evers, SMAA, Gershuni, O., Lambrechts, DAJE, Majoie, MHJM, et al. (2017). Una revisión sistemática de las evaluaciones económicas de los tratamientos para pacientes con epilepsia. *Epilepsia* 58(1), 706–726.
- Wong, D., & Stillman, M. (2018). Metallothionein: An Aggressive Scavenger—The Metabolism of Rhodium(II) Tetraacetate (Rh₂(CH₃CO₂)₄). *ACS Omega*, 3(11), 16314–16327.
- You, J., Huang, H., Chan, C. T. Y., & Li, L. (2022). Pathological Targets for Treating Temporal Lobe Epilepsy: Discoveries From Microscale to Macroscale. *Frontiers in Neurology*, 12(1), 1–15.