

Microglía y neurodegeneración en el núcleo talámico dorsomedial de la rata infante después del Estado Epiléptico

García-Martínez Adoniram, Quiroz-Vergara Fernando, Véliz-Castillo Iván, Álvarez-Croda Mariely, López-Meraz María-Leonor

CENTRO DE INVESTIGACIONES CEREBRALES, UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Recibido 6-noviembre-2018

Aceptado 10-enero-2019

Publicado 15-febrero-2019

Artículo original

Correspondencia

Dra. María-Leonor López-Meraz
Centro de Investigaciones Cerebrales,
Universidad Veracruzana. Unidad
de Ciencias de la Salud, Médicos y
Odontólogos s/n, Col. Unidad del
Bosque, CP. 91010, Xalapa, Veracruz,
México.

E-mail: leonorlopez@uv.mx

2018, López-Meraz, et. al. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Creative Commons Attribution License CC BY 4.0 International NC, que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite el autor original y la fuente.

Resumen

Introducción: El estado epiléptico (EE) produce extensa muerte neuronal en el cerebro en desarrollo. Entre las estructuras cerebrales afectadas es de relevancia el tálamo, al ser el centro de relevo e integración de la información hacia la corteza cerebral. La microglía es un sistema especializado de inmunidad celular que se activa o sobre-expresa cuando existe daño al tejido cerebral.

Objetivo: Determinar cambios en la cantidad y morfología de la microglía en el núcleo dorsomedial del tálamo de ratas en desarrollo después del EE y su relación con la neurodegeneración.

Método: El EE se produjo con el modelo de litio-pilocarpina en ratas de 14 días de edad; las ratas control no convulsionaron. La microglía se identificó utilizando el marcador Iba1 y se determinó la microglía total, así como la microglía con características morfológicas de no-activada y activada en condiciones control y 2, 6, 24 y 48 h después del EE. La presencia de células en degeneración se evaluó con el colorante Fluoro-Jade C.

Resultados: La microglía total después del EE fue similar al control, mientras que la microglía activada aumentó 6-48 h después del EE, efecto que coincidió con el tiempo al cual se observaron neuronas en degeneración.

Conclusión: Estos hallazgos demuestran que la microglía se activa en respuesta al EE y sugiere que su activación podría estar implicada en los mecanismos que promueven neurodegeneración en el tálamo en desarrollo.

Palabras clave: Microglía, estado epiléptico, tálamo, neurodegeneración, rata en desarrollo.

Original article

Microglia and neurodegeneration in the infant rat dorso-medial thalamic nucleus after status epilepticus

Abstract

Introduction: Status epilepticus (SE) produces extensive neuronal death in the developing brain. Among the affected brain structures, neuronal degeneration is most prominent in the central and lateral segments of the mediodorsal nucleus of the thalamus. On the other hand, microglia is a specialized system of cellular immunity that is activated or over-expressed when there is damage to brain tissue.

Aim: The goal of this study was to determine the extent and the time course of microglia activation and neuronal injury in the mediodorsal thalamic nucleus after SE induced in fourteen-days-old rat pups.

Method: SE was induced with the lithium-pilocarpine model. Presence of microglia with non-activated and activated morphology was determined in the mediodorsal thalamic nucleus by immunohistochemical methods, in control conditions and 2, 6, 24 and 48 h following SE and correlated to the appearance of neuronal injury detected by Fluoro-Jade C (F-JC) staining.

Results: Activated microglial and neuronal injury was detected in the mediodorsal thalamus 6-48 h following SE, while no changes in total microglia were observed.

Conclusion: These data demonstrate that in the mediodorsal thalamic nucleus, microglia is activated in response to seizures and that this activation may contribute to SE-induced neuronal injury in the immature brain.

Key words: Microglia, status epilepticus, thalamus, neurodegeneration, developing rat

Introducción

La epilepsia es un trastorno del cerebro caracterizado por una predisposición duradera a generar crisis epilépticas y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales de esta condición¹. El estado epiléptico (EE) es una condición que resulta ya sea de una falla en los mecanismos responsables de la terminación de las crisis epilépticas o de la iniciación de mecanismos que conducen a crisis anormalmente prolongadas.

El EE tiene consecuencias a largo plazo, incluyendo muerte neuronal, daño neuronal y alteración de las redes neuronales, dependiendo del tipo y duración de las crisis². Desde el punto de vista de su incidencia, los estudios epidemiológicos muestran que el EE se presenta principalmente en niños pequeños³⁻⁵ haciendo a esta población vulnerable a este tipo de actividad epiléptica y a sus consecuencias.

A nivel experimental, las causas y consecuencias del EE en el cerebro en desarrollo se han estudiado utilizando roedores de diferentes edades. Lo anterior ha permitido conocer que el EE produce muerte neuronal en diferentes regiones cerebrales, incluyendo el hipocampo, la amígdala y el tálamo⁶⁻⁹. De interés para este estudio es el tálamo, pues esta estructura cerebral es de relevancia dado su papel como compuerta para el flujo de información hacia y desde la corteza cerebral¹⁰. Sin embargo, pocos estudios han abordado las consecuencias del EE en esta estructura cerebral. Un estudio clave es el realizado por Kubová, et. al.⁷ quienes mostraron que el EE generado en ratas de 12 días de edad promovió extensa muerte neuronal necrótica en los núcleos talámicos dorsal y lateral, efecto detectado desde las 24 hasta las 48 h después de las convulsiones.

Por otro lado, una agresión al sistema nervioso central promueve una respuesta por parte de la microglía, que implica su activación y que se refleja en cambios en su morfología, su proliferación y en la liberación de moléculas mediadoras de la inflamación¹¹. La extensión y temporalidad de la activación de la microglía determina en gran medida sus efectos en el tejido cerebral¹¹. En el caso particular del EE, se ha identificado un aumento de la microglía en el hipocampo después de las convulsiones¹²⁻¹⁴ y que la inhibición de su activación con minociclina promueve una menor pérdida de neuronas debido al EE¹⁴. En el trabajo de Kubová, et al., la muerte neuronal necrótica en el núcleo talámico dorsal y lateral debido al EE se asoció con la presencia de microglía con morfología ameboide (identificada con el marcador microglial OX-42)⁷. Sin embargo, existe aún información faltante para entender mejor los mecanismos de neurodegeneración y muerte neuronal en el tálamo debido al EE.

Considerando la información previamente señalada, en este trabajo se plantearon las siguientes preguntas de investigación: ¿Existen

cambios en la cantidad y morfología de la microglía en el núcleo talámico dorsomedial de la rata infante después del EE? y ¿dichos cambios se relacionan con la neurodegeneración detectada en ese núcleo talámico?. Por lo tanto, los objetivos del presente estudio fueron caracterizar los cambios morfológicos de la microglía en el núcleo talámico dorsomedial de la rata infante a diferentes tiempos después del EE generado con el modelo de litio pilocarpina, e identificar su relación con la neurodegeneración observada en dicho el núcleo talámico.

Justificación

Se sabe que después del EE, una de las regiones cerebrales que presenta muerte neuronal en la rata infante es el tálamo. Sin embargo, los mecanismos implicados en este fenómeno han sido poco explorados y existe evidencia de que la microglía pudiera tener una participación importante en este acontecimiento. Considerando lo anterior, esta investigación trató de establecer la relación entre la neurodegeneración y la activación de las células microgliales, para lo cual se planteó realizar un análisis temporal de los cambios morfológicos de la microglía en el núcleo talámico dorsomedial después del EE producido en la rata infante.

Hipótesis

El EE inducido en la rata infante promueve neurodegeneración y que la microglía adquiera una morfología activada en el núcleo talámico dorsomedial.

Material y método

Sujetos experimentales

Se utilizaron ratas de ambos sexos de la cepa Wistar desde los 14 hasta los 16 días de edad (P14-P16). El día de nacimiento se consideró como el día cero (P0). Las ratas se criaron en el bioterio del Centro de Investigaciones Cerebrales de la Universidad Veracruzana ubicado en la ciudad de

Xalapa, Veracruz, y se mantuvieron con sus madres hasta el final de los experimentos en condiciones ambientales de temperatura (20-22°C) y humedad (60-70%), con ciclos luz-oscuridad de 12 h (0800-2000 h) y con libre acceso a agua y alimento. Después del periodo de apareamiento y durante la lactancia, las hembras adultas que resultaron preñadas se alojaron individualmente en cajas de acrílico transparente (15 x 24 x 37 cm). Para procurar la homogeneidad en los pesos de las crías, las camadas se estandarizaron a 10 crías cada una. El protocolo experimental de este proyecto se aprobó por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto de Ciencias de la Salud (CICUAL-ICS, número de aprobación 2017-0003). Los experimentos fueron conducidos basados en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para las "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio" y la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (Guide for the care and use of laboratory animals; eighth edition, National Research Council, 2011).

Inducción del estado epiléptico con litio-pilocarpina

Las ratas se inyectaron con cloruro de litio (127.2 mg/Kg, i.p.) en el día 13 de edad, y 20 h después, en el día postnatal 14, el EE se indujo por la administración de clorhidrato de pilocarpina (100 mg/Kg, s.c.). Las ratas del grupo control se inyectaron con un volumen similar de solución salina en vez de pilocarpina al tiempo anteriormente señalado. En total se conformaron 5 grupos experimentales, cuatro grupos para evaluar diferentes tiempos posteriores al EE: 2 (n=6), 6 (n=7), 24 (n=6) y 48 h (n=7), y un grupo control sin convulsiones (n=8). La manifestación conductual del EE fue monitoreada conductualmente y sólo aquellos animales que lo desarrollaron se incluyeron en el estudio. Para este fin se empleó la escala descrita por Haas¹⁵ que describe la severidad de las convulsiones según las siguientes fases: 0, arresto conductual;

1, mioclonias faciales y de la boca; 2, balanceo arriba-debajo de la cabeza; 3, mioclonia unilateral de miembros anteriores; 3.5, mioclonias alternadas de los miembros anteriores; 4, mioclonias bilaterales de los miembros anteriores; 5, mioclonias bilaterales de los miembros anteriores con postura de canguro y pérdida de la postura; 6, corrida y saltos violentos con vocalizaciones; 7, crisis tónica. El EE consistió en convulsiones continuas por más de 30 min.

Al finalizar el EE (o de la condición control) todos los animales, excepto el grupo que se perfundió a las 2 h, se rehidrataron con solución salina glucosada 5% (1 ml, s.c.) y se regresaron con la madre al no presentar convulsiones y mostrar respuesta refleja normal a estímulos como el contacto y parpadeo provocado. El tiempo de separación de la madre de las crías control y EE fue similar y no mayor a 6 h.

Preparación del tejido cerebral

Una vez transcurridas 2, 6, 24 o 48 h después del inicio del EE o de la manipulación control, las ratas se anestesiaron con una sobredosis de pentobarbital sódico (120 mg/kg, i.p.) y se perfundieron transcardiacamente con solución salina (NaCl 0.9%) y paraformaldehído al 4% preparado en una solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M (BF, pH 7.4). Los cerebros se mantuvieron *in situ* por 24 h a 4°C y posteriormente se extrajeron y post-fijaron durante 2 h en la misma solución fijadora. Los cerebros se crioprotegieron en sacarosa al 20 y 30% (preparadas en BF). Posteriormente, se recolectaron de manera sistemática secciones cerebrales coronales de 20 y 60 µm de grosor (para la tinción con Fluoro-jade C (F-JC) e inmunohistoquímica, respectivamente) con un criostato (Leica 3050CM), mismas que se colocaron directamente sobre los portaobjetos (superfrost® Plus, Fisher brand) y se almacenaron a -20 °C hasta su uso. La recolección del tejido se realizó a nivel del hipocampo dorsal y el tálamo, considerando las coordenadas del atlas estereotáxico de Sherwood y Timiras¹⁶ para cerebros de ratas en desarrollo de

25-30 gr de peso: en sentido rostral-caudal, 3.2 mm a 0.8 anterior a la línea interaural.

Inmunohistoquímica para detectar Iba1

Para identificar a la microglía y caracterizar su morfológica, se detectó por inmunohistoquímica a la proteína de unión a calcio ionizado (Iba1). Para este procedimiento, las peroxidasas endógenas se eliminaron con metanol al 100%, para posteriormente realizar el bloqueo de sitios de unión inespecíficos con una solución al 0.5% de suero de cabra en BF 0.1 M con tritón al 0.3% durante 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, las secciones se incubaron con el anticuerpo primario policlonal anti-Iba1 hecho en conejo (1:30 000, Wako) durante dos noches a 4°C. Pasado este periodo se lavó el exceso de anticuerpo primario con BF 0.1 M y las secciones se incubaron entonces con anticuerpo secundario anti-conejo biotinilado (1:300; BA-1000, Vector Labs) a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se amplificó utilizando el complejo avidina-biotina (ABC, Vector Labs) y se reveló con diaminobencidina (DAB, Vector Labs). Una vez finalizada la inmunohistoquímica, las secciones se dejaron secar, se incubaron 1 min en violeta de cresilo (FD Cresyl Violet Solution™ Double Strength, PS102-02), y lavaron en agua destilada. Posteriormente, se sumergieron en una solución de ácido acético glacial al 0.1% en etanol al 95% por un min. Por último, las secciones se deshidrataron con tres inmersiones en etanol absoluto por 4 min cada una, seguidas de dos inmersiones de 5 min en xilol. Las secciones se montaron con cubreobjetos con un medio de montaje para histología (DPX, Sigma). Para la identificación morfológica de la microglía y su conteo, se seleccionaron 3 cortes histológicos por cada rata que incluyeran de forma íntegra el tálamo dorsomedial. Una vez identificado el núcleo talámico dorsomedial, se fotografió el núcleo de ambos hemisferios cerebrales con el objetivo 10x a una resolución de 1024x768 pixeles, para lo cual se empleó un microscopio óptico Leica DM 500

acoplado a una cámara ICC50HD. Los conteos se realizaron de forma semiautomática utilizando el programa de procesamiento de imágenes Fiji¹⁷ en la región de interés de 68 496 μm^2 . Se obtuvo el promedio del número de células identificadas en la región de interés considerando ambos hemisferios de los 3 cortes cerebrales para cada rata. El conteo correspondiente a la microglía total consideró todas las células inmunoreactivas a la proteína Iba1 en la región de interés. Para el análisis morfológico de la microglía, se consideraron los siguientes criterios, basándose en el trabajo de Jonas, et.al¹⁸: a) Microglía no activada: células con un cuerpo celular menor a 10 μm^2 de diámetro, con procesos de un grosor menor a 5 μm y que mostraran copas fagocíticas en los extremos de sus procesos; b) Microglía activada: células con cuerpo celular mayor a 10 μm^2 de diámetro y con procesos de un grosor mayor a 5 μm . Aquellas células que mostraron una morfología irregular y una coloración atípica en comparación a las demás, no fueron incluidas en los conteos.

Tinción con Fluoro-Jade C

La presencia de células en degeneración (neurodegeneración) después del EE se evaluó con la tinción de F-JC. Las laminillas se lavaron con solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M y se dejaron secar al aire para permitir su total adherencia a los portaobjetos por 1 h. Después, las secciones se fijaron en hidróxido de sodio 1% (en etanol 80%) y en etanol 70%, para posteriormente incubarlos en permanganato de potasio (KMnO_4) 0.06 % y después en la solución de F-JC al 0.0001%. Una vez secas, las secciones fueron deshidratadas en xilol y montadas con cubreobjetos con un medio de montaje para histología (DPX, Sigma) para su análisis con un microscopio de epifluorescencia (Olympus AX40).

El número de células positivas al F-JC se evaluó en la misma región de interés y con el mismo procedimiento que para la microglía, pero

considerando las células fluorescentes. El conteo sólo se realizó en las ratas que tuvieron EE, pues las ratas control no presentaron células positivas al F-JC.

Análisis estadístico

Los cambios en la microglía total, el número de células Iba1 con morfología de no activadas y activadas, así como en el número de células positivas a F-JC se analizaron con una prueba de Kruskal Wallis, seguida de una prueba de comparación múltiple de Dunn (se compararon todos los grupos experimentales entre sí). Se consideró un nivel de significancia de $\alpha=0.05$. Los análisis y las gráficas se realizaron con el programa *Graph Pad Prism versión 6.0*.

Resultados

El análisis del número de células Iba1 positivas correspondiente a la microglía total presente en el núcleo talámico dorsomedial, mostró diferencias entre los grupos experimentales (Kruskal Wallis = 16.12, $p = .003$). El EE no modificó el número total de células Iba1 positivas a ninguno de los tiempos evaluados con respecto al grupo control ($p > .05$). Sin embargo; la cantidad de microglía total a las 6 h fue menor a lo observado 2 y 48 h después del EE ($p < .05$) (*figura 1*).

Figura 1.

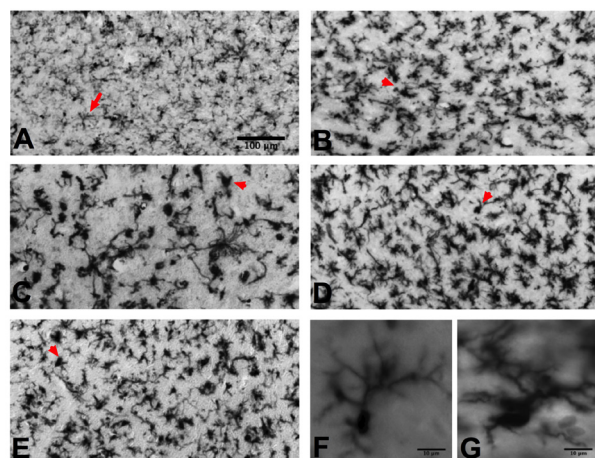


Figura 1. Las fotomicrografías del panel superior muestran la microglía en el núcleo talámico dorsomedial a diferentes tiempos después del estado epiléptico (EE). A, condición control; B, 2 h después del EE; C, 6 h después del EE; D, 24 h después del EE; E, 48 h después del EE. La flecha señala a una célula microglial no activada, y las cabezas de flecha indican las células microgliales activadas. En F y G se ilustra la microglía con morfología de no activada (F) o activada (G). Barra de calibración = 100 μ m (bajo aumento) y 10 μ m (alto aumento). En el panel inferior se muestra el curso temporal del número de células de la microglía en el núcleo talámico dorsomedial en condiciones control y después del EE. Los datos se analizaron con una prueba de Kruskal Wallis, seguida de una prueba de comparación múltiple de Dunn. # $p < .05$ vs el grupo 2 h después del EE.

Con respecto a la microglía no activada presente en el núcleo talámico dorsomedial, el análisis estadístico mostró que el EE promovió cambios en este parámetro (Kruskal Wallis = 26.32; $p > .001$). Se observó una disminución de la microglía no activada con respecto al grupo control únicamente a las 6 y 24 h después del EE ($p < .05$). Dado que este efecto resultó ser más pronunciado 6 h posterior al EE, también resultó diferente del grupo evaluado a las 48 h después de las convulsiones ($p < .05$) (*figura 2*).

El análisis estadístico del número de células Iba1 positivas con morfología activada presente en el núcleo talámico dorsomedial mostró cambios asociados al EE (Kruskal Wallis = 21.18; $p > .001$). La microglía activada aumentó a las 6, 24 y 48 h después del EE con respecto al grupo control ($p < .05$). Sin embargo, 2 h después de las convulsiones, el número de microglía activada no mostró diferencia respecto al grupo control (figura 2).

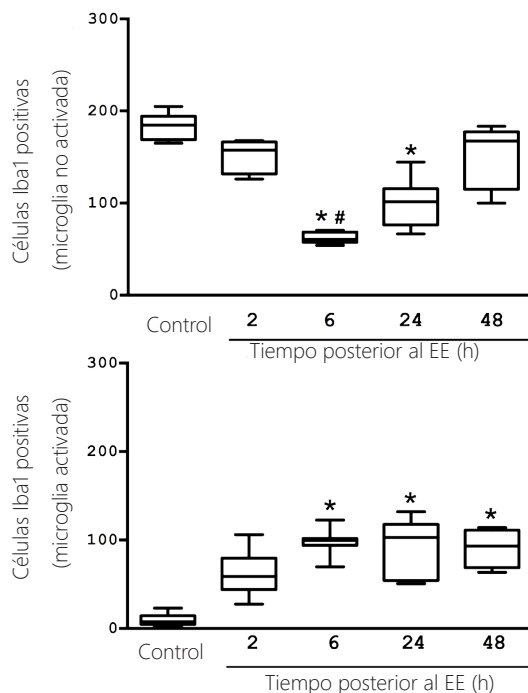


Figura 2. Curso temporal del número de células de la microglía no activadas (panel superior) y activadas (panel inferior) en el núcleo talámico dorsomedial en condiciones control y después del estado epiléptico (EE). Los datos se analizaron con una prueba de Kruskal Wallis, seguido de una prueba de comparación múltiple de Dunn. * $p < 0.05$ vs el grupo control; # $p < 0.05$ vs el grupo 48 h después del EE.

Las ratas control (sin convulsiones) no presentaron células F-JC positivas, mientras que éstas si se

identificaron claramente después del EE (Kruskal Wallis = 25.96; $p > .001$). Así, las células F-JC positivas estuvieron presentes y fueron estadísticamente diferentes al control desde las 6 y hasta las 48 h después del EE ($p < .05$), no así 2 h después del mismo. El mayor número de células positivas al F-JC se detectó 24 h después del EE, por lo que resultó también ser mayor a lo observado a las 2 h después del EE ($p < .05$) (figura 3).

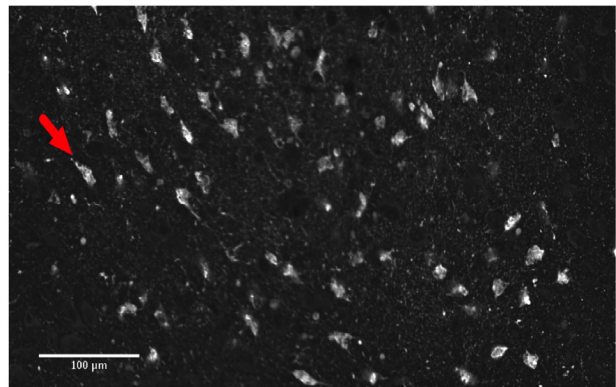
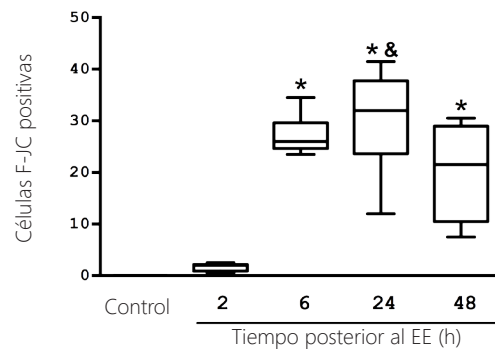


Figura 3. El panel superior muestra células positivas al Fluoro-Jade C (F-JC) en el núcleo talámico dorsomedial 24 h después del estado epiléptico (EE). La flecha señala a una neurona en degeneración. Barra de calibración = 100 µm. En el panel inferior se muestra el curso temporal del número de células positivas a F-JC en el núcleo talámico dorsomedial en condiciones control y después del EE. * $p < 0.05$ vs el grupo control; & $p < 0.05$ vs el grupo 2 h después del EE.

Discusión

Los resultados de este trabajo muestran que el EE en la rata infante produce cambios morfológicos en la microglía del núcleo talámico dorsomedial, que sugieren su activación, y que cursan con una temporalidad similar a la neurodegeneración allí observada.

La microglía es un tipo celular dinámico del sistema nervioso; su comportamiento está influenciado por la actividad o alteración de las neuronas. Diversos estudios también han mostrado un aumento de la microglía o de su activación en diversas regiones cerebrales después del EE, principalmente en el hipocampo, debido a su gran susceptibilidad al daño neuronal debido a las convulsiones desde el desarrollo hasta la etapa adulta^{6,9,13,14,19}. Lo anterior se ha mostrado al observar un aumento de la cantidad de células microgliales y de la expresión de ciertas citoquinas producidas por éstas posterior al EE tanto en roedores en desarrollo como adultos^{13,20-22}. Sin embargo, otra región cerebral que también ha mostrado ser susceptible al daño neuronal debido al EE en la rata infante de 12 días de edad es el tálamo y en particular el núcleo talámico dorsomedial⁷. Los resultados aquí presentados muestran que también en ratas de dos semanas de vida, se pueden identificar algunas células en degeneración en este núcleo talámico a partir de las 2 h después del EE, siendo evidentes a partir de las 6 h y manteniéndose hasta las 48 h posterior a las convulsiones.

Nuestros hallazgos demostraron una disminución de la microglía no activada asociada con un aumento de la microglía activada en el núcleo talámico dorsomedial después del EE en la rata infante. Lo anterior sugiere que la microglía residente cambia su morfología pasando de una forma no activada a una activada en respuesta al EE. En un estudio realizado previamente y en el

que utilizaron el mismo modelo experimental que en nuestro trabajo, se describió la presencia de microglía con morfología ameboide (lo cual sugiere su activación) después del EE en los núcleos talámicos lateral y medial, así como la presencia de muerte neuronal necrótica⁷. Sin embargo, en dicho estudio no se describió el cambio morfológico de la microglía a diferentes tiempos después del EE. En este contexto, el analizar los cambios temporales de la microglía residente en el tálamo dorsomedial, puede generar conocimiento de la dinámica celular que se genera a consecuencia del EE en esta región, no sólo en términos de la degeneración neuronal, sino también en las consecuencias de su afectación. Así por ejemplo, se sabe que en la rata neonata, el tálamo dorsomedial es importante para el desarrollo de la corteza prefrontal y la ejecución posterior de funciones cognitivas²³.

La neurodegeneración en el núcleo talámico dorsomedial después del EE se demostró al detectar la presencia de células F-JC positivas. Este proceso de degeneración fue evidente a partir de las 6 h después del EE, fenómeno que concuerda con un cambio morfológico en la microglía, pues disminuyen aquellas con morfología de no activadas y aumentan las activadas. Al identificar que la activación de la microglía y las células en degeneración presentan un patrón similar, resulta importante remitirse al papel de las sustancias liberadas por la microglía tales como la interleucina-1 β , la interleucina 6 y el factor de necrosis tumoral- α ^{13,20,24-26} y que podrían estar implicadas o adyudar a los mecanismos de muerte neuronal debido a las convulsiones. Tal es el caso de la interleucina 1- β , que se ha identificado previamente en el hipocampo^{20,25,27} y cuya aplicación exógena facilita la muerte neuronal después del EE²⁸. Adicionalmente, se reportó que la activación aguda y persistente de la microglía debida al EE, se evitó con el inhibidor microglial minociclina, y que este fármaco también redujo la pérdida neuronal hipocampal característica de este modelo¹⁴.

Estos datos en conjunto apoyan el papel relevante de la neuroinflamación en las consecuencias del EE, en este caso en términos de la degeneración neuronal.

Por otro lado, aunque no resultó ser diferente del control, existió un mayor número de células de la microglía en el núcleo talámico dorsomedial 48 h después del EE, efecto que podría asociarse con la migración de monocitos circulantes a esta zona cerebral, con la finalidad de eliminar los restos de las células en degeneración. Lo anterior considerando la evidencia que existe sobre la capacidad de estas células en atravesar la barrera hematoencefálica posterior a algún daño tisular, inflamación, infección o un evento neurodegenerativo, incluyendo al EE²⁹⁻³².

Conclusión

La microglía del núcleo talámico dorsomedial de la rata infante presenta cambios morfológicos que sugieren su activación en respuesta al EE, misma que coincide con la aparición de células en degeneración en esta región cerebral. Lo anterior apoya que la activación de la microglía podría estar involucrada en los mecanismos de neurodegeneración que subyacen al EE.

Financiamiento

El presente trabajo ha sido financiado por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México a través de la beca de doctorado otorgada a MA (249772) y de la beca de ayudante de investigación otorgada a AGM en conjunto con la Universidad Veracruzana (48580).

Referencias

1. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005; 46(4):470-2.
2. Trinka E, Cock H, Hesdorffer D, Rossetti AO, Scheffer IE, Shinnar S, et al. A definition and classification of status epilepticus-Report of the ILAE Task Force on Classification of Status Epilepticus. *Epilepsia* 2015; 56(10):1515-23.
3. DeLorenzo RJ, Pellock JM, Towne AR, Boggs JG. Epidemiology of status epilepticus. *J Clin Neurophysiol* 1995; 12(4):316-25.
4. DeLorenzo, Hauser WA, Towne AR, Boggs JG, Pellock JM, Penberthy L, Garnett L, et al. A prospective, population-based epidemiologic study of status epilepticus in Richmond, Virginia. *Neurol* 1996; 46:1029-35.
5. Hauser, W. The prevalence and incidence of convulsive disorders in children. *Epilepsia* 1994; 35 Suppl2: S1-6.
6. Sankar R, Shin DH, Liu H, Mazarati A, Pereira de Vasconcelos A, Wasterlain CG. Patterns of status epilepticus-induced neuronal injury during development and long-term consequences. *J Neurosci* 1998; 18(20):8382-93.
7. Kubová H, Druga R, Lukasiuk K, Suchomelova L, Haugvicova R, Jirmanova I, et al. Status epilepticus causes necrotic damage in the mediodorsal nucleus of the thalamus in immature rats. *J Neurosci* 2001; 21(10):3593-9.
8. Nairismägi J, Pitkänen A, Kettunen MI, Kauppinen RA, Kubova H. Status epilepticus in 12-day-old rats leads to temporal lobe neurodegeneration and volume reduction: a histologic and MRI study. *Epilepsia* 2006; 47(3): 479-88.
9. López-Meraz ML, Wasterlain CG, Rocha LL, Allen S, Niquet J. Vulnerability of postnatal hippocampal neurons to seizures varies regionally with their maturational stage. *Neurobiol Dis* 2010; 37(2): 394-402.
10. Nakajima M, Halassa MM. Thalamic control of functional cortical connectivity. *Curr Opin Neurobiol* 2017; 44:127-31.
11. Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 2007; 10(11):1387-94.
12. Vezzani A, Ravizza T, Balosso S, Aronica E. Glia as a source of cytokines: Implications for neuronal excitability and survival. *Epilepsia* 2008; 49 Suppl 2:24-32.
13. Vezzani A, Conti M, De Luigi A, Ravizza T, Moneta D, Marchesi F, et al. Interleukin-1 β immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. *J Neurosci* 1999; 19(12): 5054-65.

14. Wang N, Mi X, Gao B, Gu J, Wang W, Zhang Y, et al. Minocycline inhibits brain inflammation and attenuates spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus. *Neuroscience* 2015; 287:144–56.
15. Haas KZ, Sperber EF, Moshe SL. Kindling in developing animals: expression of severe seizures and enhanced development of bilateral foci. *Brain Res Dev Brain Res* 1990; 56(2): 275-80.
16. Sherwood NM, Timiras PS. A stereotaxic atlas of the developing rat brain. Berkeley-Los Angeles-London, University of California Press, 1970.
17. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* 2012; 9 (7):676-82.
18. Jonas RA, Yuan TF, Liang YX, Jonas JB, Tay DK, Ellis-Behnke RG. The spider effect: morphological and orienting classification of microglia in response to stimuli in vivo. *PLoS One* 2012; 7(2) p.e30763.
19. Avignone E, Ulmann L, Levavasseur F, Rassendren F, Audinat E. Status epilepticus induces a particular microglial activation state characterized by enhanced purinergic signaling. *J Neurosci* 2008; 28 (37): 9133-44.
20. De Simoni MG, Perego C, Ravizza T, Moneta D, Conti M, Marchesi F, et al. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur J Neurosci* 2000; 12(7): 2623–33.
21. Ravizza T, Rizzi M, Perego C. Inflammatory response and glia activation in developing rat hippocampus after status epilepticus. *Epilepsia* 2005; 46 Suppl 5:113-7.
22. Eyo U, Peng J, Swiatkowski P, Mukherjee A, Bispo A, Wu LJ. Neuronal hyperactivity recruits microglial processes via neuronal NMDA receptors and microglial P2Y12 receptors after status epilepticus. *J Neurosci* 2014; 34(32):10528-40.
23. Ouhaz Z, Ba-M'hamed S, Bennis M. Morphological, structural, and functional alterations of the prefrontal cortex and the basolateral amygdala after early lesion of the rat mediodorsal thalamus. *Brain Struct Fun* 2017; 222(6): 2527-45.
24. Rizzi M, Perego C, Aliprandi M, Richichi C, Ravizza T, Colella D, et al. Glia activation and cytokine increase in rat hippocampus by kainic acid-induced status epilepticus during postnatal development. *Neurobiol Dis* 2003; 14(3): 494-503.
25. Järvelä JT, Lopez-Picon FR, Plysjuk A, Ruohonen S, Holopainen IE. Temporal profiles of age-dependent changes in cytokine mRNA expression and glial cell activation after status epilepticus in postnatal rat hippocampus. *J Neuroinflammation* 2011; 8:29.
26. Kaur C, Rathnasamy G, Ling EA. Biology of microglia in the developing brain. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2017; 76(9):736-43.
27. Álvarez-Croda DM, Santiago-García J, Medel-Matus JS, Martínez-Quiroz J, Puig-Lagunes AA, Beltrán-Parrazal L, et al. Hippocampal distribution of IL-1 β and IL-1RI following lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in the developing rat. *An Acad Bras Cienc* 2016; 88 Suppl 1:653-63.
28. Medel-Matus JS, Álvarez-Croda DM, Martínez-Quiroz J, Beltrán-Parrazal L, Morgado-Valle C, López-Meraz MC. IL-1 β increases necrotic neuronal cell death in the developing rat hippocampus after status epilepticus by activating type 1 IL-1 receptor (IL-1RI). *Int J Dev Neurosci* 2014; 238: 232-40.
29. Merrill JE, Benveniste EN. Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful. *Trends Neurosci* 1996; 19(8):331–8.
30. Denker SP, Ji S, Dingman A, Lee SY, Derugin N, Wendland MF, et al. Macrophages are comprised of resident brain microglia not infiltrating peripheral monocytes acutely after neonatal stroke. *J Neurochem* 2007; 100(4): 893-904.
31. Ravizza T, Gagliardi B, Noé F, Boer K, Aronica E, Vezzani A. Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 2008; 29(1):142-60.
32. Fabene PF, Navarro MG, Martinello M, Rossi B, Merigo F, Ottoboni L, et al. A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. *Nat Med*. 2008; 14(12):1377-83.

Artículo sin conflicto de interés

© Archivos de Neurociencias