

Biomarcadores en epilepsia: una actualización

Xiana Rodríguez Osorio

Resumen

A pesar de la aparición de numerosos antiepilépticos en los últimos años, la respuesta al tratamiento farmacológico es insatisfactoria en un tercio de los pacientes con epilepsia. Además, aun en los casos en los que el tratamiento es eficaz, solo consigue controlar la aparición de crisis de forma sintomática y tiene que administrarse crónicamente. Una de las limitaciones para la disponibilidad de fármacos que mejoren, curen o incluso prevengan la epilepsia de forma permanente es la falta de biomarcadores válidos que permitan predecir qué personas sufrirán epilepsia, cuándo ocurrirá una crisis o quién desarrollará farmacoresistencia. En los casos refractarios es de vital importancia localizar con la mayor precisión posible la zona epileptógena. También es fundamental conocer los cambios fisiopatológicos que dan lugar al desarrollo de una epilepsia. Se revisan los biomarcadores genéticos de neuroimagen, de registros electrofisiológicos y moleculares, obtenidos por estudios de experimentación animal o investigaciones clínicas, tanto con pacientes en riesgo de presentar epilepsia, como con un diagnóstico de epilepsia ya establecido. También se revisan aquellos biomarcadores presentes en los procesos de epileptogénesis.

Palabras clave: Biomarcadores. Epileptogénesis. Epilepsia. Crisis.

Abstract

Response to pharmacological treatment in one out of three patients with epilepsy is unsatisfactory despite the availability of numerous antiepileptic drugs in recent years. In addition, even in those cases where treatment is effective, it only manages to control seizures symptomatically and has to be administered in a chronic manner. One of the limitations for the accessibility to drugs that ameliorate, cure or event prevent epilepsy permanently is the lack of valid biomarkers to predict which patients will suffer epilepsy, when a seizure will occur or who will develop drug resistance. For refractory cases it is vital to accurately localize the epileptogenic zone. It is also essential to recognize the physiopathological changes that lead to the development of epilepsy. Biomarkers of epilepsy from genetics, neuroimaging, electrophysiological recordings, or molecular investigations, either obtained by animal models or clinical research with patients diagnosed with epilepsy or at risk of developing epilepsy are reviewed. Involvement of these biomarkers in the epileptogenesis process is also specified. (Kranion. 2019;14:94-9)

Corresponding author: Xiana Rodríguez Osorio, xiana.ro@gmail.com

Key words: Biomarkers. Epileptogenesis. Epilepsy. Seizures.

INTRODUCCIÓN

La epilepsia se define como un estado que predispone a producir crisis de manera persistente, y estas aparecen cuando se altera el equilibrio entre mecanismos de excitación e inhibición por la existencia de una sincronización anormal de las células nerviosas. Un 30% de los pacientes son farmacorresistentes y deben estudiarse mediante un protocolo de evaluación prequirúrgica¹. Se define epileptogénesis como el proceso por el que un determinado grupo o circuito neuronal se convierte en hiperexcitable y puede generar crisis epilépticas espontáneas. Las estructuras que forman parte de una red epileptógena estarían involucradas tanto en la generación y expresión de las crisis como en la perpetuación de su aparición se considera ictogénesis como el proceso de generación de una crisis epiléptica².

La zona epileptógena (ZE) es la región necesaria y suficiente para la generación de crisis, por lo que su resección conseguiría la supresión de éstas. Incluye los conceptos de lesión epileptógena, zona de inicio ictal, zona irritativa o zona sintomática³. A mayor precisión en su localización y en la resección completa, mejor pronóstico posquirúrgico en epilepsias focales farmacorresistentes.

DEFINICIÓN DE BIOMARCADOR Y SU APLICACIÓN EN EPILEPSIA

Se consideran biomarcadores (marcadores biológicos) a las subcategorías de signos médicos que pueden ser medidas con precisión y reproducidas⁴. En epilepsia se distinguen: marcadores de imagen (resonancia magnética [RM], tomografía por emisión de positrones [PET]), electrofisiológicos (electroencefalografía [EEG]); biológicos (sangre, líquido cefalorraquídeo [LCR], tejido cerebral) o cognitivo-conductuales (cambios en cognición, humor o conducta). Un biomarcador para epileptogénesis se define como aquella característica objetivamente medible de un proceso biológico que identifica de manera clara el desarrollo, la presencia, la gravedad, la progresión o la localización de una anomalía epileptogénica⁵. Un biomarcador puede estar presente durante la epileptogénesis y no durante la ictogénesis y viceversa⁶. Su utilidad es tanto diagnóstica como pronóstica. La epilepsia focal farmacorresistente permite la obtención de tejido cerebral patológico si se trata con cirugía, y estas muestras posibilitan comparaciones directas entre los datos obtenidos por experimentación animal y los humanos⁷. Aunque lo ideal sería disponer de biomarcadores universales para todos los pacientes epilépticos, debido a la complejidad y heterogeneidad de la enfermedad y la localización variable de la ZE, son más factibles

las combinaciones de distintos tipos de biomarcadores para grupos específicos de pacientes.

TIPOS DE BIOMARCADORES EN EPILEPSIA

Marcadores genéticos

Las mutaciones genéticas pueden favorecer el desarrollo de epilepsia a diferentes niveles: constituyendo su etiología, haciendo al cerebro más vulnerable para presentar crisis, o modificando la respuesta al tratamiento⁸. Se han descrito genes que participan en la neurotransmisión GABA-érgica, polimorfismos que incrementan la susceptibilidad para padecer una epilepsia del lóbulo temporal (ELT), y otros que regulan la excitabilidad neuronal, generan mediadores proinflamatorios, protegen frente al estrés oxidativo o facilitan la comunicación intercelular. A pesar de ello, su relevancia clínica para predecir el riesgo individual de epilepsia sin considerar otros factores aún es pequeña.

Los microARN (o miRNA) son fragmentos de ARN no codificante de pequeño tamaño que regulan la expresión postranscripcional del ARN codificante. El cerebro es el órgano que posee la mayor cantidad de mRNA y están involucrados en la patogenia de la epilepsia⁹. Se silencian mediante oligonucleótidos antisentido que son capaces de reducir las crisis en modelos animales, mostrando su potencialidad como diana terapéutica¹⁰. También se detectan en sangre periférica¹¹. Se han identificado el hsa-miR-106b5p para el diagnóstico de epilepsia o el miRNA-145-5p en la detección de farmacorresistencia precoz^{12,13}. En pacientes con estado epiléptico (EE) frente a pacientes con ELT y controles se constató elevación en LCR de miR-451a y miR-21-5p¹⁴.

Marcadores de imagen

La neuroimagen tiene una gran importancia tanto diagnóstica como pronóstica^{15,16}. La tabla 1 resume los principales biomarcadores de neuroimagen *in vivo*.

PET cerebral

La ¹⁸F-fluorodesoxiglucosa (FDG) es el radiotrazador habitualmente empleado en la práctica clínica. Muestra hipermetabolismo durante las crisis en la región que las genera e hipometabolismo en situación interictal. Este hipometabolismo ya está presente durante la epileptogénesis en modelos animales, y su mayor intensidad se relaciona con una mayor frecuencia crítica posterior¹⁷. Puede ser de ayuda en casos de EE no convulsivo de difícil diagnóstico, donde se observará un incremento de la captación de FDG¹⁸.

TABLA 1. Biomarcadores in vivo de neuroimagen cerebral en epilepsia

Modalidad de imagen	Modelos de epilepsia	Potenciales biomarcadores
RM potenciada en T1, T2	Post-EE, <i>kindling</i> , LFPI-TCE	Hiperintensidad T2 para edema, gliosis, pérdida celular, disfunción de BHE
RM con contraste	Post-EE	Realce con gadolinio, óxido de hierro y magnesio
RM-difusión	Post-EE, <i>kindling</i> , LFPI-TCE	Cambios en AG, perfusión y difusión por edema, daño axonal y cambios de conectividad
RM funcional	Post-EE, <i>kindling</i> , LFPI-TCE	Cambios en la señal BOLD en alteraciones de la conectividad y activación cerebral
RM-espectroscopia	Post-EE, <i>kindling</i>	Cambios en NAA, mIns, GABA-A, glutamato, glutamina y glutatión en caso de muerte y disfunción neuronal
PET-FDG	Post-EE, <i>kindling</i> , LFPI-TCE, CER	Cambios en el metabolismo de la glucosa para activación cerebral, alteraciones metabólicas y pérdida neuronal
PET-TSPO	Post-EE, CER	Cambios en TSPO por neuroinflamación
Radiotrazadores PET	Post-EE, <i>kindling</i> , CER	Densidad de neurotransmisores, farmacoresistencia e integridad de la BHE

RM: resonancia magnética; PET-FDG: tomografía por emisión de positrones con fluorodesoxiglucosa; EE: estado epiléptico; LFPI (*lateral fluid-percussion injury*): daño lateral por percusión de fluido; TCE: traumatismo craneoencefálico; BHE: barrera hematoencefálica; AG: ácidos grasos; BOLD (*brain oxygen levels depend*): imagen dependiente de niveles de oxígeno cerebral; NAA: *N*-acetilaspartato; mIns: mioinositol; CER: crisis espontáneas recurrentes; TSPO: 18-kDa proteína translocadora; GABA: ácido gamma-amino butírico.

En los últimos años se han desarrollado ligandos PET de proteínas traslocadoras (TSPO) para estudiar la influencia de la inflamación en epilepsia. Durante el proceso inflamatorio, la TSPO (que refleja la activación de la microglía) está regulada al alza, particularmente durante la epileptogénesis¹⁹. También existe una disminución concomitante de receptores GABA-A en hipocampo y córtex, visualizable mediante C-flumazenilo o F-flumazenilo²⁰.

La PET también permite definir biomarcadores de farmacoresistencia. En modelos animales de ELT existe un incremento del trazador de TSPO en la ZE de aquellos no respondedores a fenobarbital²¹. Además, la penetración y eficacia de los fármacos antiepilépticos puede estar influida por la regulación anormal de la glucoproteína P en la barrera hematoencefálica (BHE). La captación cerebral de ¹¹C-verapamilo, radiotrazador sustrato de esta glucoproteína, se eleva en pacientes farmacoresistentes, reflejando un incremento de su función²².

Resonancia magnética cerebral

RM CON CONTRASTE

Hay evidencia robusta de que las crisis provocan una disfunción de la BHE. Los agentes de contraste basados en gadolinio pueden detectar esta disfunción y permiten llevar a cabo estudios longitudinales *in vivo*. Los cambios en la señal de RM localizan la región donde existe la alteración de

la BHE y cuantifican su grado de permeabilidad²³. También se ha detectado disfunción de la BHE durante la epileptogénesis en pacientes tras un traumatismo craneoencefálico (TCE) y epilepsia posterior. Sin embargo, la complejidad para obtener esta imagen de forma dinámica y el tiempo prolongado necesario para su medición dificultan su implementación clínica.

RM ESPECTROSCÓPICA

Los estudios de espectroscopia permiten el estudio in vivo de una serie de metabolitos en un momento temporal determinado. Pueden revelar anomalías metabólicas en una RM estructuralmente normal, aunque los cambios metabólicos relacionados con procesos de epileptogénesis podrían ser muy focales y sutiles⁸. Estudios en animales han mostrado un incremento de marcadores astrocitarios como el mioinositol y una reducción de *N*-acetilaspartato (NAA) en el hipocampo durante la epileptogénesis. Los pacientes con epilepsia por esclerosis hipocámpal presentan una reducción de NAA y la elevación de colina y creatina.

RM ESTRUCTURAL DE ALTA RESOLUCIÓN

Hay una serie de anomalías estructurales que podrían considerarse biomarcadores de epileptogénesis, como la hipointensidad en secuencias T2 de la amígdala y el tálamo medial observada en

modelos de crisis febriles²⁴. Por otro lado, una hipointensidad precoz en la amígdala y el hipocampo dorsal se ha relacionado con la aparición de dificultades de aprendizaje a los 2-3 meses de las crisis febriles en estudios preclínicos.

Otro posible biomarcador es el grado de reducción de la fracción de anisotropía (asimetría en la difusión de agua en el cerebro a lo largo de los haces de tractos de fibras) en la sustancia blanca de los lóbulos temporales cuantificada por imágenes con tensor de difusión, mayor en la ELT mesial refractaria que en la benigna²⁵.

RM FUNCIONAL

La RM funcional (RMf) corregistrada con EEG se ha empleado para identificar imágenes BOLD (*blood oxygen level dependent* o imagen dependiente del nivel de oxígeno en sangre) relacionadas con las descargas EEG interictales de pacientes con epilepsia, y así definir con más precisión la zona irritativa y la ZE en epilepsia focal. Más aún, los registros EEG mediante electrodos profundos permitieron identificar cambios muy focales correlacionados con la ZE y otros cambios remotos considerados componentes de las redes epilepticas de estos sujetos, incrementando el conocimiento sobre la distribución de las redes epileptógenas. Además, la resección completa de la zona de máxima respuesta BOLD se asoció con un mejor pronóstico posquirúrgico²⁶.

También es posible obtener mapas de conectividad funcional y estructural en el cerebro epileptico mediante RMf (analizando su estado de reposo, o *resting state*) y mediante técnicas de tractografía. En pacientes con epilepsia focal se ha observado una conectividad alterada entre el tálamo y la corteza que precede a la generación de puntas²⁷.

La RMf podría constituir un biomarcador pronóstico de posibles déficits posquirúrgicos en lenguaje y memoria. Determinados paradigmas de nominación auditivos y visuales pueden identificar dificultades para la nominación tras una resección temporal anteromedial (RTAM). Asimismo, el riesgo de pérdida de memoria tras una RTAM parece mayor a mayor hiperactivación del hipocampo anterior visualizable por RMf. Sin embargo, si existe una hiperactivación hipocampal posterior ipsilateral, el pronóstico mejora²⁸. No obstante, para evaluar el riesgo de pérdida de memoria de manera individual, clínicamente se sigue recomendando la realización de un test de Wada. La memoria de trabajo también se afecta en la ELT por las conexiones aberrantes del hipocampo esclerosado con el córtex elocuente para este fin, y mejora tras la cirugía una vez se interrumpe completamente su conexión. Los cambios en la actividad funcional de ambas estructuras pueden visualizarse por RMf²⁹.

MARCADO ARTERIAL DE ESPÍN

Otro posible biomarcador de la ZE es el marcado arterial de espín (ASL, *arterial spin labeling*), que modifica la magnetización de la sangre arterial y la emplea como un trazador endógeno para medir el reparto de este trazador en los tejidos cerebrales. En humanos existe una hipoperfusión intercrítica en la teórica ZE y también durante el periodo postictal hasta una hora después, lo que permitiría mejorar la resolución espacial del EEG y el SPECT ictal (*single photon emission computed tomography*) como marcadores diagnósticos de la ZE³⁰.

Marcadores electrofisiológicos

Podrían considerarse biomarcadores de epileptogénesis y de epilepsia los siguientes hallazgos EEG: puntas intercríticas (que reflejan las descargas sincronas de las neuronas), oscilaciones de alta frecuencia (HFO, *high frequency oscillations*) o cambios en el ritmo de fondo (enlentecimiento de la actividad basal).

Las HFO son eventos breves de actividad cerebral en el rango de 80-600 Hz detectadas mediante registros invasivos. Se clasifican como *ripples* (ondulaciones: ondas entre 80-250 Hz) y *fast ripples* (ondulaciones rápidas: 250-600 Hz). Constituyen un marcador intercrítico de la ZE y se han empleado clínicamente³¹. La resección de las áreas que generan las HFO mejora el pronóstico funcional tras la cirugía. También constituyen un buen biomarcador pronóstico de hiperexcitabilidad neuronal (que podría conllevar el desarrollo posterior de epilepsia). La combinación de registros EEG de superficie, EEG invasivos y magnetoencefalografía podría resultar útil para validar formas de detección no invasiva^{32,33}.

Biomarcadores moleculares y celulares

Se pueden obtener de sangre, LCR o tejido cerebral patológico. Estudios experimentales muestran que la inflamación del SNC puede precipitar las crisis y generar actividad crítica sostenida. Estudios en tejido cerebral humano confirman la presencia de mediadores inflamatorios. Además, niveles elevados de IL-1b en suero y LCR se han asociado con un riesgo elevado de desarrollo de epilepsia³⁴.

Un marcador precoz de neuroinflamación es el HMGB1 (*high-mobility group box-1*)³⁵. También se ha investigado la acción de la sICAM5 (molécula de adhesión intercelular conocida como telencefalina, con efectos antiinflamatorios). En pacientes con epilepsia farmacorresistente, niveles disminuidos de sICAM5 respecto a controles se correlacionaron con un incremento en las concentraciones de IL-1b³⁶.

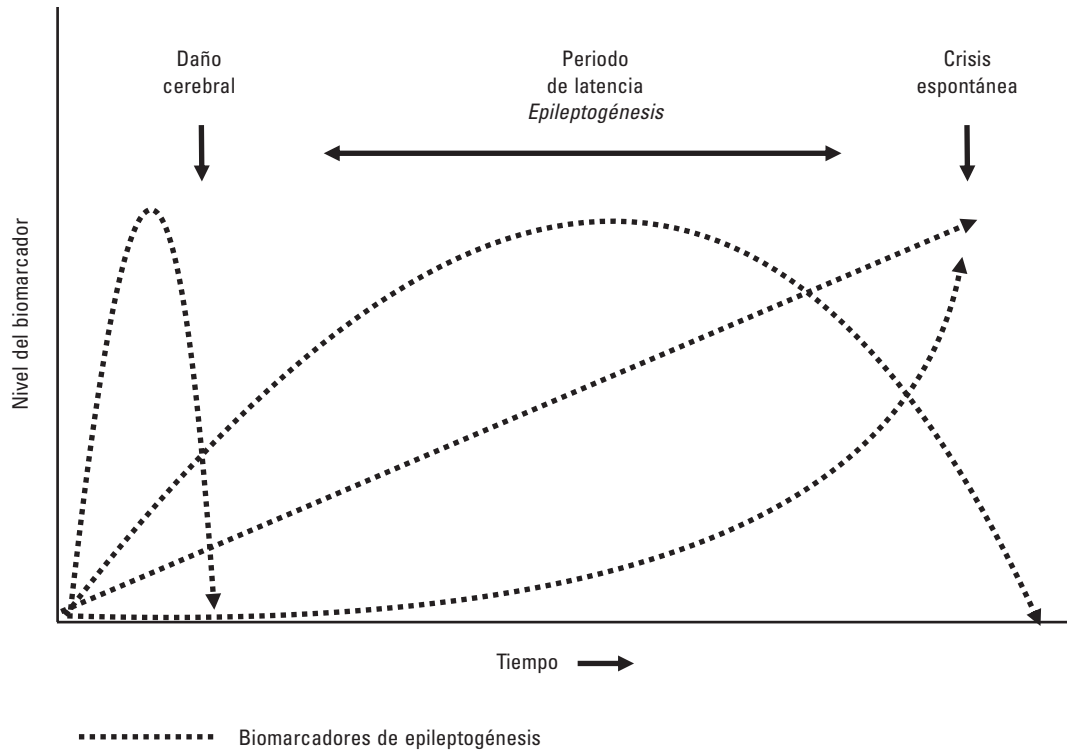


FIGURA 1. Diferentes expresiones de biomarcadores de epileptogénesis.

Entre los marcadores de ruptura de la BHE destaca la presencia de la proteína S100B en sangre periférica (cuando la BHE está intacta solo es detectable en LCR y tejido cerebral)³⁷.

Las crisis también pueden producir especies reactivas de oxígeno. La 8-hydroxi-2-desoxiguanosina y los F2 isoprostanos son marcadores de estrés oxidativo y están elevados en regiones cerebrales vulnerables de modelos animales de EE y en pacientes con epilepsia³⁸.

Los niveles plasmáticos disminuidos de BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*, factor neurotrófico derivado del cerebro) predicen vulnerabilidad para desarrollar epilepsia tras un determinado daño cerebral y para asociar comorbilidades como depresión o déficits cognitivos durante la fase crónica³⁹.

También existen marcadores que podrían diferenciar los espasmos infantiles de etiología sintomática o criptogénica. Los casos sintomáticos se relacionan con niveles muy bajos de IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*, factor de crecimiento insulínico tipo 1) en LCR y de hormona adrenocorticotropa³⁷. Los niveles bajos de IGF-1 en LCR se asocian con peor respuesta al tratamiento y peor estado cognitivo, ya que el IGF-1 es un factor de crecimiento fundamental para la supervivencia de las sinapsis neuronales. Por tanto,

en el momento de aparición de los espasmos, el IGF-1 en LCR podría constituir un biomarcador de respuesta al tratamiento y de progresión de la epilepsia, además de reflejar un peor rendimiento cognitivo a medio plazo.

Biomarcadores de comorbilidades

Las comorbilidades neurológicas y psiquiátricas son frecuentes en los pacientes epilépticos, por lo que la identificación de biomarcadores que los detecten es de gran interés.

En relación con la memoria y otros déficits cognitivos, se comprobó la participación de la vía JAK/STAT (*Janus kinase/signal transducer and activator of transcription*) y la mTOR (*mammalian target of rapamycin*), así como procesos de estrés oxidativo y disfunción mitocondrial⁴⁰. En la depresión existe una función disminuida de los receptores de serotonina 5-HT1A postsinápticos y un estado de inflamación crónica (aumento de IL-1b en el plasma de pacientes epilépticos con depresión mayor), además de un adelgazamiento del córtex orbitofrontal⁴¹. La discapacidad intelectual se ha asociado con un menor volumen hipocampal, talámico, de la amígdala y de los cuerpos mamilares, y a niveles bajos de

BDNF e IGF-1. Por último, en la ansiedad se ha observado un mayor volumen de la amígdala y una reducción del grosor del córtex orbitofrontal⁴².

RETOS ACTUALES

Un reto importante para establecer biomarcadores en epilepsia es la reducción de la variabilidad interindividual condicionada por la heterogeneidad genética, la raza, el sexo y la edad. Además, los estudios deberán centrarse en identificar biomarcadores fácilmente accesibles y que se puedan medir a lo largo del tiempo. Dada la alta heterogeneidad de la enfermedad, cuyo conocimiento, especialmente desde el punto de vista genético, aún está en desarrollo, habrá que desarrollar paneles de diferentes patrones de biomarcadores que puedan aplicarse a tipos de epilepsia específicos.

La identificación de estos biomarcadores, sobre todo aquellos que puedan predecir procesos de epileptogénesis de forma clínicamente significativa, será de alto interés para los ensayos con fármacos antiepilépticos. Tales desarrollos conllevarán sin duda importantes cambios en el abordaje diagnóstico y terapéutico de nuestros pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Estimation of the burden of active and live-time epilepsy: a meta-analytic approach. *Epilepsia*. 2010;51:883-90.
- Spencer SS. Neural networks in human epilepsy: evidence of and implications for treatment. *Epilepsia*. 2002;43:219-27.
- Rosenow F, Luders H. Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain* 2001;124:1683-700.
- Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5:463-6.
- Pitkänen A, Engel J Jr. Past and present definitions of epileptogenesis and its biomarkers. *Neurotherapeutics*. 2014;11:796-806.
- Engel J Jr, Pitkänen A, Loeb JA, Dudek E, Bertram III EH, Cole AJ, et al. Epilepsy biomarkers. 2013;54(Suppl. 4):61-9.
- Jozwiak S, Becker A, Cepeda C, Engel J Jr, Gnatkovsky V, Huberfeld G, et al. WONOEP appraisal: Development of epilepsy biomarkers. What we can learn from our patients? *Epilepsia*. 2017;58:951-61.
- Pitkänen A, Löscher W, Vezzani A, Becker AJ, Simonato M, Lukasiuk K, et al. Advances in the development of biomarkers for epilepsy. *Lancet Neurol*. 2016;15:843-56.
- Li MM, Li XM, Zheng XP, Yu JT, Tan L. MicroRNAs dysregulation in epilepsy. *Brain Res*. 2014;10:1584-94.
- Brindley E, Hill TDM, Henshall DC. MicroRNAs as biomarkers and treatment targets in status epilepticus. *Epilepsy Behav*. 2019;S1525-5050(19)30353-1.
- Zucchini S, Marucci G, Paradiso B, Lanza G, Roncon P, Cifelli P, et al. Identificación de miRNAs diferencialmente expresados en epilepsia con o sin patología de la célula granular. *PLoS One*. 2013; 9: e05521.
- Wang J, Yu JT, Tan L, Tian Y, Ma J, Tan CC, et al. Genome-wide circulating microRNA expression profiling indicates biomarkers for epilepsy. *Sci Rep*. 2015;5:9522.
- Shen CH, Zhang YX, Zheng Y, Yang F, Hu Y, Xu S, et al. Expression of plasma microRNA-145-5p and its correlation with clinical features in patients with refractory epilepsy. *Epilepsy Res*. 2019;154:21-5.
- Raouf R, Jiménez-Mateos EM, Bauer S, Tackenberg B, Rosenow F, Lang J, et al. Cerebrospinal fluid microRNAs are potential biomarkers of temporal lobe epilepsy and status epilepticus. *Sci Rep*. 2017;7:3328.
- Wykes RC, Khoo HM, Caciagli L, Blumenfeld H, Golshani P, Kapur J, et al. WONOEP appraisal: network concept from an imaging perspective. *Epilepsia*. 2019;60:1293-305.
- Van Vliet EA, Dedeurwaerdere S, Cole AJ, Friedman A, Koepp MJ, Potschka H, et al. WONOEP appraisal: imaging of biomarkers in epilepsy. *Epilepsia*. 2017;58:315-30.
- Guo Y, Gao F, Wang S, Ding Y, Zhan H, Wang J, et al. In vivo mapping of temporospatial changes in glucose utilization in rat brain during epileptogenesis: a 18F-fluorodeoxyglucose-small animal positron emission tomography study. *Neuroscience*. 2009;162:972-9.
- Struck AF, Westover MB, Hall LT, Deck GM, Cole AJ, Rosenthal ES. Metabolic correlates of the ictal-interictal continuum: FDG-PET during continuous EEG. *Neurocrit Care*. 2016;24:324-31.
- Brackham M, Bascunana P, Postema JM, Ross TL, Bengel FM, Bankstahl M, et al. Serial quantitative TSP0-targeted PET reveals peak microglial activation up to two weeks after an epileptogenic brain insult. *J Nucl Med*. 2016;57:1302-8.
- Reddy SD, Younus I, Sridhar V, Reddy DS. Neuroimaging biomarkers of experimental epileptogenesis and refractory epilepsy. *Int J Mol Sci*. 2019;20:220.
- Bogdanovic RM, Syvanen S, Michler C, Russmann V, Eriksson J, Windhorst AD, et al. (R)-[11C]PK11195 brain uptake as a biomarker of inflammation and antiepileptic drug resistance: evaluation in a rat epilepsy model. *Neuropharmacology*. 2014;85:104-12.
- Feldmann M, Asselin MC, Lui J, Wang S, McMahon A, Anton-Rodriguez J, et al. P-glycoprotein expression and function in patients with temporal lobe epilepsy: a case-control study. *Lancet Neurol*. 2013;12:777-85.
- van Vliet EA, Otte WM, Gorter JA, Dijkhuizen RM, Wadman WJ. Longitudinal assessment of blood-brain barrier leakage during epileptogenesis in rats. A quantitative MRI study. *Neurobiol Dis*. 2014;63:74-84.
- Choy M, Dube CM, Patterson K, Barnes SR, Maras P, Blood AB, et al. A novel, noninvasive predictive epilepsy biomarker with clinical potential. *J Neurosci*. 2014;34:8672-84.
- Labate A, Cherubini A, Tripepi G, Mumoli L, Ferlazzo E, Aguglia U, et al. White matter abnormalities differentiate severe from benign temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2015;56:1109-16.
- An D, Fahoum F, Hall J, Olivier A, Gotman J, Dubeau F. Electroencephalography/functional magnetic resonance imaging responses help predict surgical outcome in focal epilepsy. *Epilepsia*. 2013;54:2184-94.
- Chiosa V, Groppa SA, Ciolac D, Koirala N, Misia L, Winter Y, et al. Breakdown of thalamo-cortical connectivity precedes spike generation in focal epilepsies. *Brain Connect*. 2017;7:309-20.
- Bonelli SB, Powell RH, Yoganarajah M, Samson RM, Symms MR, Thompson PJ, et al. Imaging memory in temporal lobe epilepsy: predicting the effects of temporal lobe resection. *Brain*. 2010;133:1186-99.
- Stretton J, Sidhu MK, Winston GP, Bartlett P, McEvoy AW, Symms MR, et al. Working memory network plasticity after anterior temporal lobe resection: a longitudinal functional magnetic resonance imaging study. *Brain*. 2014;137:1439-53.
- Gaxiola-Valdez I, Singh S, Perera T, Sandy S, Li E, Federico P. Seizure onset zone localization using postictal hypoperfusion detected by arterial spin labelling MRI. *Brain*. 2017;140:2895-911.
- Andrade-Valencia LP, Dubeau F, Mari F, Zemann R, Gotman J. Interictal scalp fast oscillations as a marker of the seizure onset zone. *Neurology*. 2011;77:524-31.
- Tenney JR, Fujiwara H, Horn PS, Vannest J, Xiang J, Glauser TA, et al. Low-and-high-frequency oscillations reveal distinct absence seizure networks. *Ann Neurol*. 2014;76:558-67.
- Dümpelmann M, Jacobs J, Schulze-Bonhage A. Temporal and spatial characteristics of high frequency oscillations as a new biomarker in epilepsy. *Epilepsia*. 2015;56:197-206.
- Diamond ML, Ritter AC, Failla MD, Boles JA, Conley YP, Kochanek PM, et al. IL-1beta associations with posttraumatic epilepsy development: a genetics and biomarker cohort study. *Epilepsia*. 2014;55:1109-19.
- Maroso M, Baloto S, Ravizza T, Lui J, Aronica E, Iyer AM, et al. Toll-like receptor 4 and high-mobility group box-1 are involved in ictogenesis and can be targeted to reduce seizures. *Nat Med*. 2010;16:413-9.
- Vezzani A, Maroso M, Baloto S, Sánchez MA, Bartfai T. IL-1 receptor /Toll-like receptor signaling in infection, inflammation, stress and neurodegeneration couples hyperexcitability and seizures. *Brain Behav Immun*. 2011;25:1281-89.
- Walker LE, Janigro D, Heinemann U, Riikonen R, Bernard C, Patel M. WONOEP appraisal: molecular and cellular biomarkers for epilepsy. *Epilepsia*. 2016;57:1354-62.
- Grosso S, Longini M, Rodríguez A, Proietti F, Piccini B, Balestri P, et al. Oxidative stress in children affected by epilepsy encephalopathies. *J Neurol Sci*. 2011;300:103-6.
- Becker C, Bouvier E, Ghestem A, Siyoucef S, Claverie D, Camus F, et al. Predicting and treating stress induce vulnerability to epilepsy and depression. *Ann Neurol*. 2015;78:128-36.
- Ravizza T, Onat FY, Brooks-Kayal AR, Depaulis A, Galanopoulou AS, Marazati A, et al. WONOEP appraisal: biomarkers of epilepsy-associated comorbidities. *Epilepsia*. 2017;58:331-42.
- Vieira EL, de Oliveira GN, Lessa JM, Gonçalves AP, Sander JW, Cendes F, et al. Interleukin-1beta plasma levels are associated with depression in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2015;53:131-4.
- Jones JE, Jackson DC, Chambers KL, et al. Children with epilepsy and anxiety: subcortical and cortical differences. *Epilepsia*. 2015;56:283-90.