

FACULTAD DE MEDICINA
GRADO EN MEDICINA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA Y
MORFOMÉTRICA DE LAS ALTERACIONES
SUBYACENTES A LA DISPLASIA CORTICAL
FOCAL EN PACIENTES CON EPILEPSIA
REFRACTARIA**

**HISTOPATHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC
CHARACTERIZATION OF THE ALTERATIONS
UNDERLYING FOCAL CORTICAL DYSPLASIA IN
PATIENTS WITH DRUG-RESISTANT EPILEPSY**

Alumna: Anyi Celestina Moore Olalla

Tutor: Ricardo José Gómez Nieto

DEPARTAMENTO DE
BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA

CURSO 2021/2022



VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

A mi familia, por ser mi pilar fundamental.

A mi tutor, por su ayuda, paciencia y disponibilidad.

A todos los que me han guiado y acompañado en este trayecto.

ÍNDICE

1	RESUMEN	7
	ABSTRACT	7
2	INTRODUCCIÓN.....	9
2.1.	EPILEPSIA: GENERALIDADES	9
2.2.	LA EPILEPSIA REFRACTARIA	10
2.3.	DESARROLLO CORTICAL NORMAL	10
2.4.	MALFORMACIONES DEL DESARROLLO CORTICAL: LA DCF.....	11
3	JUSTIFICACIÓN.....	14
4	OBJETIVOS	15
4.1.	OBJETIVO GENERAL	15
4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
5	MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
5.1.	DISEÑO EXPERIMENTAL DEL ESTUDIO Y BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA	16
5.2.	PACIENTES Y ASPECTOS ÉTICOS	16
5.3.	ORGANIZACIÓN Y ESTUDIO DE LAS HISTORIAS CLÍNICAS	18
5.4.	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE TEJIDO NERVIOSO	20
5.4.1.	Obtención y fijación de las muestras	20
5.4.2.	Corte por inclusión en parafina	20
5.4.3.	Tinción con hematoxilina-eosina y montaje.....	21
5.5.	HERRAMIENTAS DE MICROSCOPIA Y ADQUISICIÓN DE IMÁGENES.....	22
5.6.	ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO Y MORFOMÉTRICO	23
6	RESULTADOS	25
6.1.	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES	25
6.2.	DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LA CORTEZA	27
6.2.1.	Alteraciones en la citoarquitectura cortical	27
6.2.2.	Alteraciones en las células nerviosas.....	27
6.3.	CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA	31
6.4.	ESTUDIO MORFOMÉTRICO	32

7	DISCUSIÓN	34
7.1.	INTERPRETACIÓN MICROSCÓPICA Y ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.....	34
7.2.	CORRELACIÓN CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICA.....	34
7.3.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	35
7.4.	LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN	36
8	CONCLUSIONES	37
9	BIBLIOGRAFÍA	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Desarrollo de la corteza cerebral normal en sus diferentes fases	10
Figura 2.	Corteza cerebral humana y parte de la sustancia blanca subyacente	11
Figura 3.	Alteraciones celulares en las MDC en comparación con una neurona piramidal.....	12
Figura 4.	DCF tipo I comparada con la corteza cerebral normal	13
Figura 5.	DCF tipo II comparada con la corteza cerebral normal	13
Figura 6.	Clasificación de las crisis epilépticas (ILAE)	18
Figura 7.	Clasificación de la epilepsia (ILAE).....	19
Figura 8.	Bloques de parafina conteniendo el tejido cerebral del lóbulo temporal de los 13 pacientes analizados en este estudio.....	20
Figura 9.	Representación de la realización de preparados	21
Figura 10.	Programa OLYMPUS OlyVIA para el estudio de secciones escaneadas.....	22
Figura 11.	Programa (Fiji Is Just) ImageJ para el análisis morfométrico de las neuronas.....	24
Figura 12.	Cambios en la citoarquitectura cortical del lóbulo temporal	28
Figura 13.	Otras alteraciones encontradas a nivel tisular.....	29
Figura 14.	Tipos neuronales presentes en la DCF.....	30
Figura 15.	Otras alteraciones encontradas a nivel celular	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación de las malformaciones del desarrollo cortical	11
Tabla 2.	Criterios de búsqueda bibliográfica.....	17
Tabla 3.	Clasificación de Engel para el estado postquirúrgico de la epilepsia.....	19
Tabla 4.	Clasificación de la DCF (Blümcke et al.).....	23
Tabla 5.	Características semiológicas, paraclínicas y quirúrgicas de los pacientes	26
Tabla 6.	Clasificación de la displasia cortical focal de los pacientes a estudio.....	31
Tabla 7.	Descripción cuantitativa de la morfología de las células regulares.....	32
Tabla 8.	Descripción cuantitativa de la morfología de las células dismórficas.....	32
Tabla 9.	Descripción cuantitativa de la morfología de las células balonadas	32

RESUMEN

Introducción: La epilepsia es un trastorno neurológico que resulta en una predisposición a sufrir crisis epilépticas. Aproximadamente una cuarta parte de las epilepsias resultan ser refractarias a los medicamentos, y uno de los principales causantes es la displasia cortical focal (DCF). El estudio de las alteraciones morfológicas subyacentes a la DCF es crucial para entender los mecanismos fisiopatológicos y su relación con la epilepsia.

Objetivos: Determinar las alteraciones histopatológicas de muestras del lóbulo temporal de pacientes con epilepsia refractaria y obtener los correspondientes datos morfométricos, así como estudiar la correlación entre las manifestaciones clínicas, las pruebas complementarias y los hallazgos histopatológicos.

Material y Métodos: Estudio descriptivo y retrospectivo de 13 casos con epilepsia refractaria que fueron sometidos a cirugía resectiva del lóbulo temporal. Las muestras de tejido cerebral, fijadas e incluidas en parafina, se procesaron mediante microtomía para su posterior tinción con Hematoxilina-Eosina. Las secciones se estudiaron mediante microscopía óptica y se escanearon digitalmente para el estudio de diferentes descriptores morfométricos mediante el programa ImageJ.

Resultados: Todos los casos presentaron extensas áreas de dislaminación cortical, radial o tangencial, con neuronas ectópicas y pérdida de límites entre sustancia gris y blanca. A nivel celular, se encontraron neuronas dismórficas y balonadas con un área y circularidad distintivas que difería de las neuronas de apariencia normal. Todas las muestras se clasifican dentro de la DCF tipo IIb, con clínica compatible con la DCF tipo III.

Conclusiones: Las muestras analizadas mostraron hallazgos histopatológicos compatibles con la DCF. Los descriptores morfométricos de las alteraciones a nivel celular contribuyen de forma objetiva a la identificación y clasificación histopatológica de la DCF. Las características clínicas y paraclínicas de los pacientes concuerdan con la localización, no así con las características de la lesión. La clasificación histológica actual sigue enfrentándose a varios retos, por lo que el desarrollo de técnicas moleculares puede derivar en una mejor comprensión de los pacientes y en mejoras en el diagnóstico y tratamiento de estos.

Palabras clave: epilepsia refractaria/farmacorresistente, histología, displasia cortical focal (DCF), dislaminación, célula dismórfica/balonada, lóbulo temporal, morfometría.

ABSTRACT

Introduction: Epilepsy is a neurological disorder that leads to epileptic seizures and represents a global health problem. About a quarter of epilepsies turn out to be drug-resistant, and one of the main causes correlates with focal cortical dysplasia (FCD). Providing insight into the morphological alterations underlying FCD is crucial to understanding physiopathological mechanisms and their relationship with epilepsy.

Objectives: Histopathological and morphometric study of temporal lobe samples from patients with drug-resistant epilepsy, and correlation between clinical manifestations, diagnostic tests, and histopathological findings.

Material and Methods: Descriptive and retrospective study of 13 cases with refractory epilepsy who underwent resection surgery of the temporal lobe. Brain tissue samples were fixed, embedded in paraffin, and subsequently cut into a thin slice that was stained with Hematoxylin&Eosin. The sections were studied under the microscope and digitally scanned for morphometric analysis with ImageJ software.

Results: All cases exhibited large areas of abnormal radial or/and tangential cortical lamination, ectopic neurons, and blurred grey-white matter junction. At the cellular level, dysmorphic and balloon cells were found with distinctive areas and circularities that differed from those of normal appearance. All analyzed samples were classified as FCD type IIb, with clinical manifestations compatible with FCD type III.

Conclusions: The histopathologic findings of the samples correlated to those established with the FCD. Morphometric descriptors of such alterations at the cellular level contribute objectively to the histological identification and classification of the FCD. Clinical and paraclinical characteristics of the patients agree with the location, however, they disagree with the characteristics of the lesion. The current histological classification continues to face several challenges; therefore, the development of molecular techniques can lead to a better understanding of the patients and improvements in their diagnosis and treatment.

Keywords: drug-resistant epilepsy, histology, focal cortical dysplasia (FCD), cortical lamination, dysmorphic cell, balloon cell, temporal lobe, morphometry.

1 INTRODUCCIÓN

2.1. Epilepsia: generalidades

La epilepsia es un trastorno neurológico en el que la actividad cerebral normal se encuentra alterada y resulta en una predisposición a sufrir crisis epilépticas. Éstas se caracterizan por una alteración súbita del comportamiento, ya sea mediante síntomas motores o no motores, acompañada o no de pérdida de la consciencia.¹

Las crisis convulsivas suceden cuando aparecen descargas neuronales anormales y sincrónicas en el cerebro (ya sea en una parte -crisis focales- o en su totalidad -crisis generalizadas-). Esto ocurre por una alteración de las conexiones sinápticas, que conlleva bien un aumento en la excitabilidad o una depresión de los mecanismos inhibidores de la neurotransmisión.²

La etiología de la epilepsia varía según la edad de aparición: en la infancia las causas más comunes son (1) la genética, (2) las lesiones perinatales y (3) las malformaciones del desarrollo cortical; mientras que en adultos y ancianos prevalecen (1) las infecciones -en adultos- o los trastornos neurodegenerativos primarios -en ancianos-, (2) los traumatismos craneoencefálicos y (3) los tumores cerebrales.³

Esta enfermedad constituye un problema de salud global, ya que representa el 1% de las enfermedades.⁴ En países desarrollados la incidencia ajustada a la edad varía entre 24 y 53 casos por cada 100000 habitantes al año, y la prevalencia oscila entre el 0,4 y 0,8% de la población. En países en vías de desarrollo los datos son incluso mayores, se puede decir que la epilepsia afecta alrededor del 0,5-1% de la población.¹

En el diagnóstico cumplen un papel muy importante las pruebas complementarias como la resonancia magnética (RM) o el vídeo-electroencefalograma (vídeo-EEG), ya que pueden localizar la lesión y orientar hacia un diagnóstico etiológico. El EEG es la prueba más importante en los pacientes con epilepsia, dada su utilidad para identificar el foco epileptógeno.⁵ La RM puede identificar lesiones estructurales subyacentes causantes de la epilepsia, las más comunes son (1) la esclerosis temporal mesial, (2) las malformaciones del desarrollo cortical y (3) los tumores cerebrales. Además, estas pruebas son fundamentales en la valoración del paciente candidato a cirugía (las imágenes pueden determinar la localización de la lesión y su relación con áreas importantes del cerebro).²

2.2. La epilepsia refractaria

Alrededor de una cuarta parte de las epilepsias resultan ser refractarias a los medicamentos.⁶ La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE por sus siglas en inglés) define la epilepsia refractaria o farmacorresistente como “aquella en la que se produce el fracaso de ensayos adecuados de dos esquemas de fármacos antiepilépticos (FAE, ya sea en monoterapia o en combinación) correctamente elegidos y usados para conseguir una ausencia mantenida de las crisis”.⁷ Esto implica un aumento significativo en la morbimortalidad de la epilepsia y limita las opciones terapéuticas, dejando a la cirugía como siguiente alternativa.

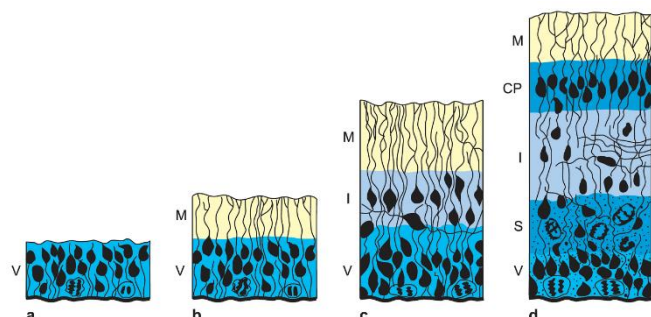
Uno de los principales factores de riesgo de la epilepsia refractaria son las lesiones cerebrales estructurales,⁸ y entre éstas destacan las malformaciones del desarrollo cortical (MDC),⁹ concretamente la displasia cortical focal (DCF).¹⁰

2.3. Desarrollo cortical normal

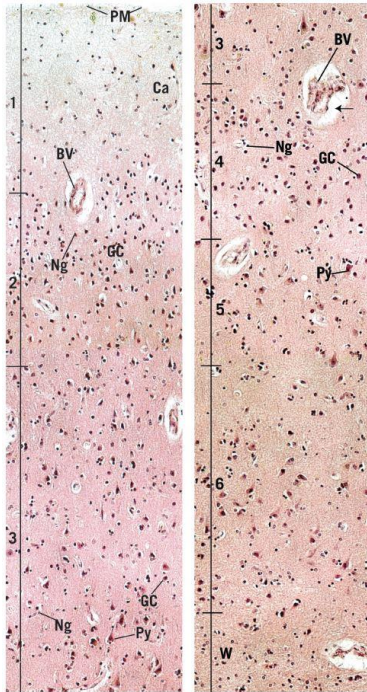
La estructura cerebral está muy organizada y conectada con el resto del Sistema Nervioso Central. Su formación ocurre en diferentes etapas: proliferación y diferenciación celular, migración neuronal y organización cortical.²

La diferenciación y proliferación neuronal se da en la matriz germinal (una estructura periventricular transitoria, que desaparece en torno a la 32ª semana de gestación), donde las células se reproducen y diferencian en neuronas y células de la glía. Esta etapa transcurre entre las semanas 5-20 de gestación. Durante la migración (6ª-22ª semanas de gestación) las neuronas se unen a las fibras de la glía radial para trasladarse a la corteza cerebral. En la etapa de organización cortical, que transcurre entre la 22ª semana de gestación y el 2º año de vida, las células neuronales se diferencian en los distintos subtipos de neuronas y se agrupan en láminas horizontales o capas, conformando la citoarquitectura de la corteza (Figura 1). Como esta etapa depende de la migración neuronal, se produce desde las capas más profundas hasta las más superficiales.²

Figura 1. Desarrollo de la corteza cerebral normal en sus diferentes fases: a y b) fase de diferenciación y proliferación; c) fase de migración; d) fase de organización. Adaptación de *Geneser. Histología*.¹¹



Las capas de la corteza cerebral son normalmente 6 (Figura 2), y se enumeran desde la más superficial a la más profunda en: molecular (I), granulosa externa (II), piramidal externa (III), granulosa interna (IV), piramidal interna (V) y multiforme (VI).¹²



Sin embargo, varios procesos clinicopatológicos durante el desarrollo pre y postnatal pueden alterar la formación de la corteza, dando lugar a las malformaciones del desarrollo cortical.¹⁰

Figura 2. Corteza cerebral humana y parte de la sustancia blanca subyacente. Las seis capas corticales se muestran mediante corchetes: 1) Capa molecular: contiene numerosas fibras y pocos somas neuronales; 2) Capa granulosa externa: compuesta por células granulosas (GC) y muchas células de la glía (Ng); 3) Capa piramidal externa: consiste en células piramidales (Py), además de las ya mencionadas células granulosas y gliales; 4) Capa granulosa interna: formada por células granulosas y de la glía; 5) Capa piramidal interna: contiene células piramidales que pueden llegar a tener un gran tamaño y células gliales; 6) Capa multiforme: incluye células de variada morfología, muchas de las cuales son fusiformes, aquí también pueden verse células de la glía y células de Martinotti. Sustancia blanca (W): conformada por los axones de las neuronas corticales, aunque presenta un aspecto muy celular debido a los núcleos de las células de la glía. Adaptación de *Atlas en color y texto de histología*.

2.4. Malformaciones del desarrollo cortical: la displasia cortical focal

Las MDC son un grupo de patologías donde la estructura de la corteza se ve alterada, producto de un desarrollo cortical anormal en el que las etapas no se encuentran separadas temporalmente. Los tipos de MDC se diferencian según la etapa alterada (Tabla 1).²

Tabla 1. Clasificación de las malformaciones del desarrollo cortical

<i>Alteraciones de la proliferación</i>
– Microlisencefalia: disminución de la proliferación
– Hemimegaencefalia: aumento de la proliferación
– Displasia cortical tipo II: proliferación anormal
<i>Alteraciones de la migración</i>
– Lisencefalia: disminución de la migración
– Distrofia muscular congénita: aumento de la migración
– Heterotopía periventricular o en banda: interrupción temprana de la migración
<i>Alteraciones de la organización</i>
– Trastornos de la estructura cortical, como la displasia cortical tipo I

La DCF es un grupo heterogéneo de alteraciones, secundarias a una lesión durante el desarrollo cortical, que abarca desde lesiones mínimas sin repercusión hasta grandes alteraciones de la organización cortical.²

Ésta puede manifestarse mediante déficit neurológico focal, retraso del desarrollo psicomotor o crisis epilépticas; de hecho, se estima que el 76% de los pacientes con DCF sufren de epilepsia refractaria.² De los pacientes con epilepsia, las pruebas complementarias identifican el lóbulo temporal como el origen de la epileptogénesis en el 50% de los casos.¹⁰

Histológicamente, la DCF se clasifica en tres tipos:¹³

- DCF tipo I (figura 4): alteraciones en la citoarquitectura (dislaminación). La dislaminación puede ser de tipo radial (Figura 4B), donde las neuronas inmaduras (Figura 3B) migran en torno a las células gliales radiales y se alinean verticalmente formando microcolumnas; o de tipo tangencial (Figura 4C), donde las células no se organizan correctamente en las 6 capas corticales.¹⁴
- DCF tipo II (figura 5): aparición de neuronas anómalas. Además de la dislaminación, podemos ver células anormales, ya sean neuronas dismórficas (Figura 3C) o balonadas (Figura 3D).
- DCF tipo III: asociada a otras lesiones.

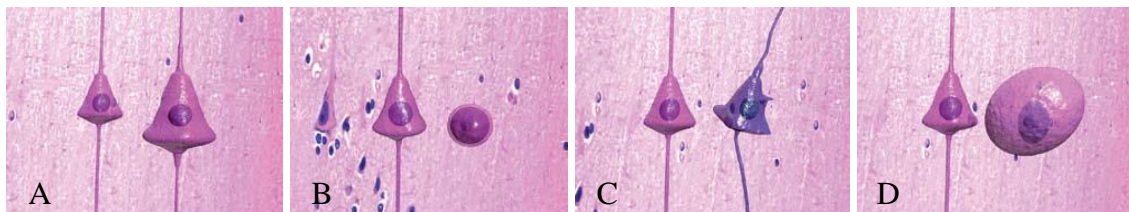


Figura 3. Alteraciones celulares en las MDC en comparación con una neurona piramidal normal: A) Neurona hipertrófica: similares a las neuronas piramidales gigantes de la capa V pero localizadas fuera de ella; B) Neurona inmadura: neuronas derivadas de los neuroblastos de pequeño tamaño, suelen agruparse en microcolumnas; C) Neurona dismórfica: células de soma y núcleo anormalmente grandes, presentan despolarización y agregados de Nissl; D) Célula balonada: células con gran soma y citoplasma opaco y eosinófilo.¹³ Adaptación de *Displasias corticales como causa de epilepsia y sus representaciones en las imágenes*.

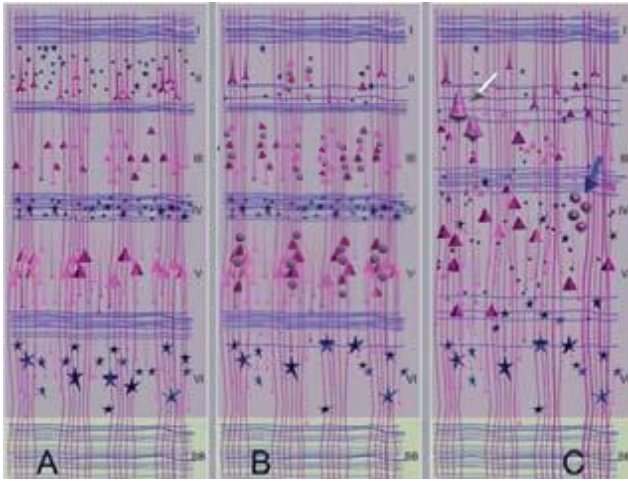


Figura 4. DCF tipo I comparada con la corteza cerebral normal. A) Corteza cerebral normal, nótese la laminación en las 6 diferentes capas de la corteza cerebral. B) DCF tipo Ia con dislaminación radial, caracterizada por la organización de la corteza en microcolumnas, las cuales se definen como la alineación vertical de 8 o más neuronas. C) DCF tipo Ib con dislaminación tangencial, donde no se pueden identificar las 6 capas de la corteza. En la DCF tipo Ic hay ambos tipos de dislaminación. Las alteraciones celulares que pueden apreciarse en la DCF tipo I son tanto las neuronas hipertróficas (flecha blanca) como las neuronas inmaduras (flecha azul).¹³ Adaptación de *Displasias corticales como causa de epilepsia y sus representaciones en las imágenes*.

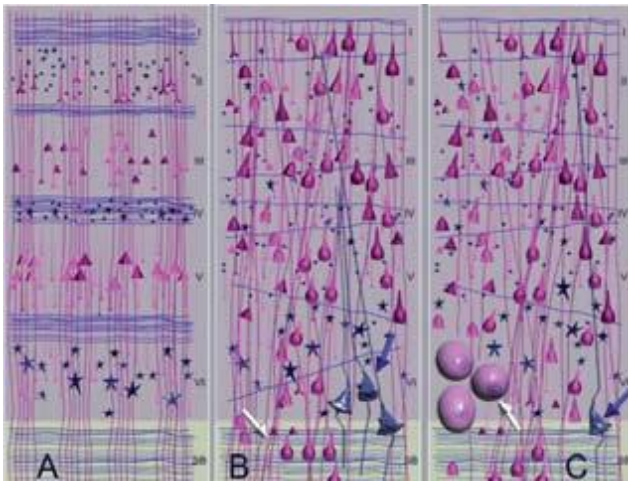


Figura 5. DCF tipo II comparada con la corteza cerebral normal (A). B) DCF tipo IIa, caracterizada por la aparición de neuronas dismórficas (flecha azul). C) DCF tipo IIb, donde además de las células dismórficas se pueden ver células balonadas (flecha blanca).¹³ Cabe destacar que en la DCF tipo II también hay alteración de la citoarquitectura, como se puede observar no se diferencian las capas de la corteza y hay cuerpos neuronales en la sustancia blanca. Adaptación de *Displasias corticales como causa de epilepsia y sus representaciones en las imágenes*.

Los mecanismos fisiopatológicos de la DCF y su relación con la epilepsia no están claros.² La investigación sobre la correlación entre la clínica de la enfermedad y sus distintos hallazgos (electroencefalográficos, radiológicos, histológicos, inmunohistoquímicos, genéticos, etc.) ha avanzado enormemente en los últimos años, sin embargo, aún existen muchas incógnitas por resolver en este campo.

3 JUSTIFICACIÓN

A pesar de que se ha demostrado la superioridad del tratamiento quirúrgico sobre el tratamiento médico en la epilepsia refractaria, la cirugía es una opción poco utilizada a nivel mundial.⁸ Es por ello que las muestras histológicas de las lesiones focales causantes de la epilepsia escasean, y por lo que su estudio tiene un elevado interés.

Este trabajo pretende describir las características anatomopatológicas que presentan estos tejidos, y basarlas en datos objetivos y estadísticos mediante el análisis morfométrico de las neuronas. Este análisis de imagen computarizado podría ser de utilidad en la validez y fiabilidad diagnóstica de la anatomopatología, ya que aporta objetividad y reproducibilidad.^{15,16} Además, el análisis morfométrico funcional puede contribuir a entender los cambios que se dan en la forma de las células y la relación de estos cambios con el comportamiento celular que lleva a la epileptogénesis.¹⁷

También se busca enlazar estos datos histológicos con la evolución de la enfermedad. La correlación clínico-histológica puede esclarecer qué tipo de pruebas diagnósticas (vídeo-EEG, RMN) son más representativas de una lesión estructural subyacente, o si ésta se puede relacionar con una etiología concreta.

Finalmente, constituye el primer paso para futuras investigaciones, como el análisis inmunohistoquímico para determinar qué proteínas están implicadas en el proceso de la enfermedad. Averiguar qué vías moleculares se ven afectadas no solo puede ayudar a clasificar ciertas malformaciones en categorías útiles para la práctica clínica, sino que también puede conducir al desarrollo de nuevas dianas terapéuticas.¹⁸

Estas proteínas también podrían ser utilizadas para diagnosticar precozmente la enfermedad, ya que la epilepsia se caracteriza, además de por las crisis epilépticas, por sus consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales asociadas.¹⁹ La DCF tiene muy buenos resultados terapéuticos, y un diagnóstico precoz favorece una curación temprana de la enfermedad, disminuyendo así la carga de la enfermedad y las consecuencias futuras de la repetición cronificada de las crisis en los pacientes.²⁰

4 OBJETIVOS

4.1. Hipótesis

La histopatología es crucial para el correcto diagnóstico de la displasia cortical focal en pacientes con epilepsia refractaria. Sin embargo, pueden surgir discrepancias en la interpretación microscópica del tejido que afecten a la categorización histopatológica de las muestras. En este trabajo, se propone la morfometría como una herramienta útil y precisa para la detección objetiva de alteraciones morfológicas y estructurales que podrían ayudar a un mejor diagnóstico de la enfermedad.

4.2. Objetivo general

El objetivo general consiste en el estudio histopatológico y morfométrico de muestras del lóbulo temporal obtenidas por resección cortical focal en pacientes con epilepsia refractaria.

4.3. Objetivos específicos

- Estudiar las historias clínicas e informes anatomopatológicos de los pacientes, así como la identificación de los datos diferenciales entre ellos.
- Determinar las alteraciones en la arquitectura cortical laminar.
- Determinar las alteraciones en las células nerviosas.
- Clasificar el tipo de DCF en función de los hallazgos encontrados.
- Obtener datos morfométricos de las muestras histológicas y correlacionarlos con la interpretación microscópica.
- Establecer una asociación entre las manifestaciones clínicas, las pruebas complementarias y los hallazgos histopatológicos.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Diseño experimental del estudio y búsqueda bibliográfica

El presente trabajo de fin de grado es un estudio observacional de tipo descriptivo y retrospectivo de pacientes con epilepsia refractaria que han sido sometidos a resecciones delimitadas del lóbulo temporal. El diseño experimental llevado a cabo consistió en la preparación de las muestras de los bloques de tejido cerebral que fueron recibidos en el Banco de Tejidos Nerviosos de Castilla y León (BTN-INCYL). Posteriormente, las secciones del lóbulo temporal fueron estudiadas mediante microscopía óptica, obteniendo imágenes digitalizadas para el análisis morfométrico. Finalmente, se realizó una revisión de las historias clínicas de los pacientes para su correlación con los hallazgos histopatológicos.

Para la contextualización del trabajo, así como para la revisión y discusión de los resultados se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos Web of Science y PubMed. Ésta se filtró por fecha de publicación (1980-2021) e idioma (inglés y español). Con el objetivo de obtener los artículos más relevantes se utilizaron palabras clave relacionadas con la epilepsia, la neurohistología, la displasia cortical focal y el análisis morfométrico, además de otras específicas de cada apartado (Tabla 2). Para la organización y almacenaje del material bibliográfico se utilizaron los gestores bibliográficos EndNote y Mendeley. También se consultaron varios atlas y libros de histología y neurología disponibles en los recursos electrónicos de la Universidad de Salamanca.

5.2. Pacientes y aspectos éticos

Los pacientes incluidos en este estudio fueron atendidos en el Centro de Epilepsia y Neurocirugía Funcional HUMANA en Ciudad de Guatemala, Guatemala (América Central). Se seleccionaron un total de 13 pacientes con epilepsia focal farmacorresistente que fueron tratados quirúrgicamente entre 2019 y 2020.

Tabla 2. Criterios de búsqueda bibliográfica

<i>Palabras clave</i>
<ul style="list-style-type: none">– Epilepsia: “epilepsia”, “refractaria”, “farmacorresistente”, “cirugía resectiva”, “epileptogenesis”, “epilepsy”, “drug-resistant”, “seizure”, “ILAE”.– Pruebas complementarias: “imagen”, “neuroimagen”, “video-EEG”, “video-electroencefalografía”, “resonancia magnética”, “neuroimaging”, “biomarker”.– Histología: “cortex”, “brain”, “histology”, “inmunohistoquímica”, “neuron degeneration stains”, “histochemistry”.– Displasia cortical focal: “displasia cortical focal”, “focal cortical dysplasia”, “FCD”, “esclerosis mesial temporal”, “cortical sclerosis”, “neuropathology”.– Análisis morfométrico: “morphology”, “morphometry”, “morphometric”.
<i>Criterios de inclusión</i>
<ul style="list-style-type: none">✓ Alteraciones anatomopatológicas de la corteza cerebral✓ Estudios de correlación clínico-radiológico-patológica
<i>Criterios de exclusión</i>
<ul style="list-style-type: none">✗ Estudios no realizados en humanos✗ Artículos sobre enfermedades o alteraciones no relacionados con la epilepsia

En cuanto a los aspectos éticos, la autora del trabajo ha firmado el compromiso de confidencialidad perteneciente a las normas y guías de la USAL para personal en formación en régimen de alumnos en centros sanitarios. También se han cumplido las normas éticas de investigación clínica dentro del proyecto de investigación titulado “Búsqueda de nuevos biomarcadores moleculares para detección de la epileptogénesis” (referencia PI19/01364) financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y cofinanciado por la Unión Europea que cuenta con la aprobación del Comité de Bioética de la Universidad de Salamanca (número de registro 375).

5.3. Organización y estudio de las historias clínicas

De cada caso se obtuvo la historia clínica y un informe anatomopatológico preliminar, con el objetivo de evaluar los datos, valoraciones e informes clínico-asistenciales de los pacientes, incluyendo antecedentes de interés, anamnesis, tratamientos, pruebas electroencefalográficas y de neuroimagen, así como las características macroscópicas del espécimen quirúrgico. Se extrajeron las siguientes variables: sexo, edad a la intervención quirúrgica, edad del primer episodio, antecedentes personales o familiares, retraso en el desarrollo o en el crecimiento, signos y síntomas (alteración de conciencia, síntomas sensitivos, síntomas motores, otros), duración y frecuencia de la crisis, tipo de epilepsia, tratamiento farmacológico, pruebas complementarias (RMN y vídeo-EEG), *Neuropsychological study* (NPS) pre y postquirúrgico, intervención quirúrgica y eficacia del tratamiento. El tipo de epilepsia fue evaluado mediante la clasificación de la ILAE (Figuras 6,7),^{21,22} mientras que para la eficacia del tratamiento se utilizó la escala de Engel (Tabla 3).²³

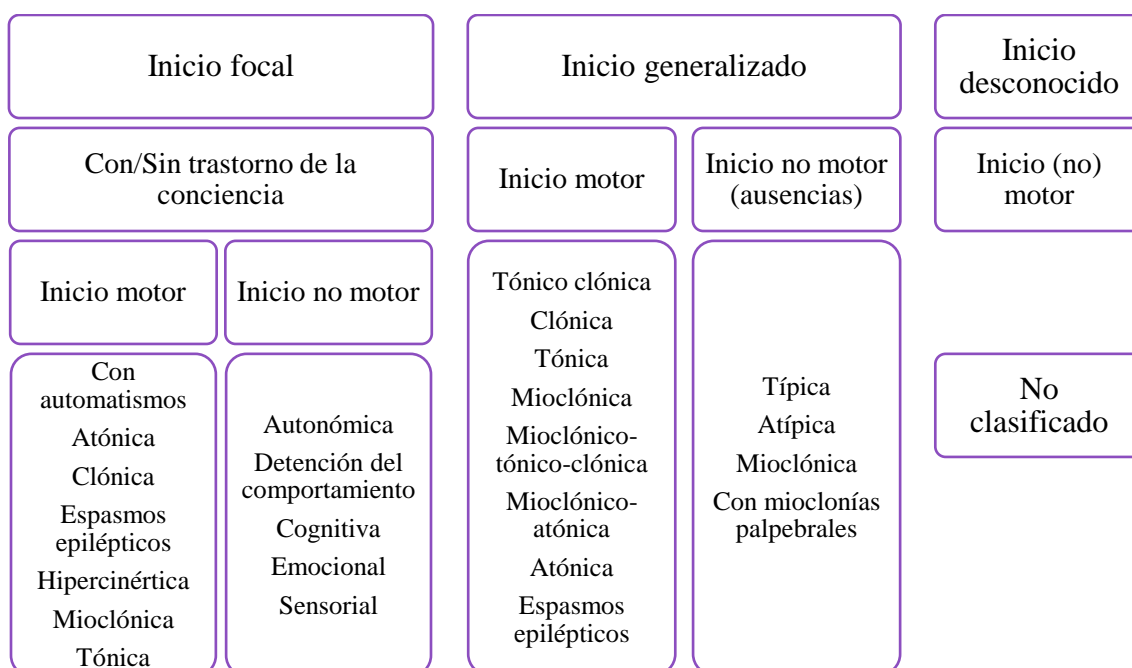


Figura 6. Clasificación de las crisis epilépticas (ILAE).²¹

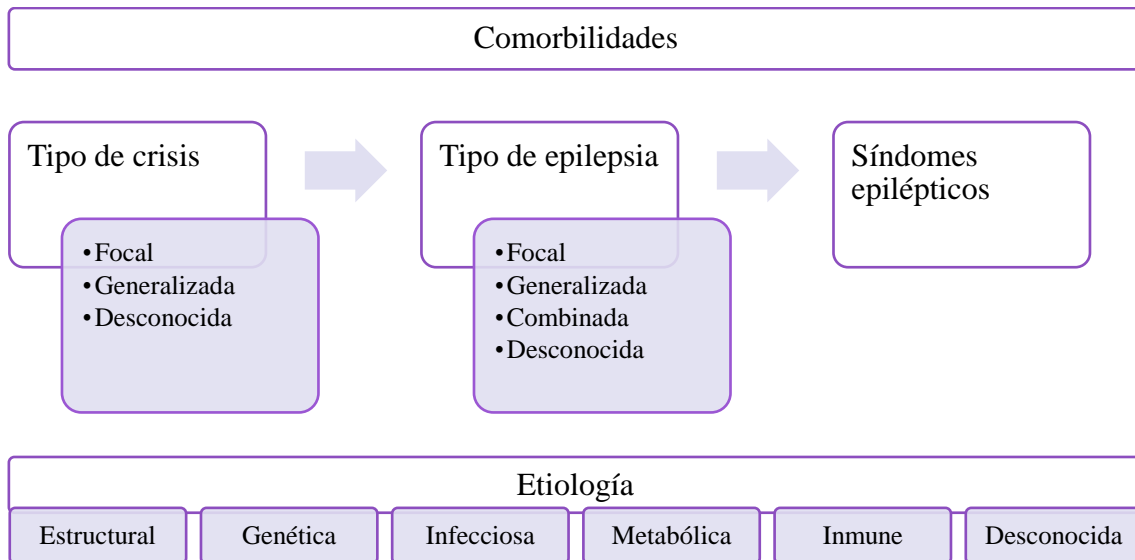


Figura 7. Clasificación de la epilepsia (ILAE).²²

Tabla 3. Clasificación de Engel para el estado postquirúrgico de la epilepsia

<i>Clase I: Libre de crisis incapacitantes</i>	<i>Clase II: Crisis incapacitantes ocasionales</i>
A Libre de crisis	A Inicialmente sin crisis incapacitantes
B Crisis focales no incapacitantes	B Inicialmente con crisis incapacitantes
C Crisis incapacitantes pero libre de ellas desde al menos 2 años	C Inicialmente con crisis incapacitantes pero muy raras en los últimos 2 años
D Crisis generalizadas al retirar FAE	D Crisis nocturnas
<i>Clase III: Mejoría significativa</i>	<i>Clase IV: Mejoría no significativa</i>
A Reducción significativa	A Reducción mínimamente apreciable
B Libre de crisis más de la mitad del tiempo, pero menos de 2 años	B Sin cambios observables
C Crisis nocturnas	C Empeoramiento de las crisis

5.4. Preparación de las muestras de tejido nervioso

5.4.1. Obtención y fijación de las muestras

Los fragmentos de tejido epileptógeno obtenido por resección quirúrgica pertenecían a la corteza cerebral del lóbulo temporal, tuvieron un tamaño medio de 2 x 1,4 x 1 cm, eran de color blanquecino y textura heterogénea variable de rugosa a lisa. Con el objetivo de estabilizar y preservar la estructura del tejido, las muestras fueron fijadas en formol al 10% durante al menos 12 horas. Posteriormente los fragmentos se incluyeron en parafina.

5.4.2. Corte por inclusión en parafina

Para poder realizar cortes del tejido lo suficientemente finos como para observarlos al microscopio las muestras fueron infiltradas con parafina, sustancia que les confiere una consistencia rígida. Esto requiere dos pasos previos: la deshidratación, donde las muestras se sumergen en soluciones de alcohol de concentraciones crecientes, y el aclaramiento, donde se utiliza un disolvente miscible tanto con el agente deshidratante como con la parafina (el xileno). De cada paciente se recibió un bloque de parafina, los cuales fueron catalogados en el BTN-INCYL (Figura 8).

Una vez la inclusión está completa y el bloque de parafina ha endurecido, se procede a obtener secciones de aproximadamente 3-6 μm de grosor mediante un microtomo.



Figura 8. Bloques de parafina conteniendo el tejido cerebral del lóbulo temporal y de los 13 pacientes analizados en este estudio.

5.4.3. Tinción con hematoxilina-eosina y montaje

Finalizando con la preparación de las muestras, éstas fueron teñidas para poder observar las estructuras de interés. En este caso se utilizó la tinción con hematoxilina y eosina: la primera tiñe de azul o violeta el núcleo de la célula y otras estructuras ácidas, mientras que la segunda colorea de rojo o rosa el citoplasma y demás estructuras básicas. Antes de la tinción el tejido se desparafina y se vuelve a hidratar (pasando por un proceso inverso a la inclusión en parafina), y después de ella se deshidrata de nuevo y se termina de montar bajo un cubreobjetos.

Todo el proceso de elaboración de preparados se resume en la Figura 9. Este proceso, desde que se recibieron los bloques de parafina, fue realizado en el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. La tinción y el montaje se llevó a cabo mediante la plataforma de trabajo hematoxilina-eosina “Dako-Agilent, CoverStainer”, que está completamente automatizada y abarca los pasos de secado, desparafinación, tinción, deshidratación, montaje y secado.²⁴

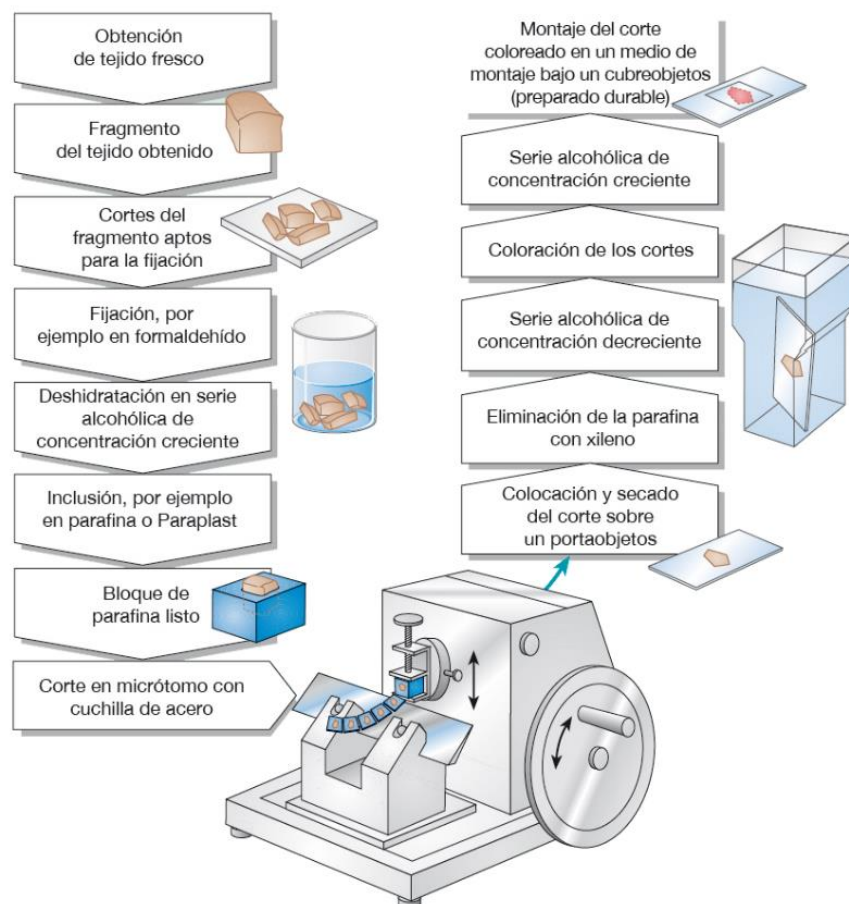


Figura 9. Representación de la realización de preparados, desde la obtención del tejido hasta el montaje final (adaptación de *Sobotta. Histología*).²⁵

5.5. Equipos de microscopia y programas para la adquisición de imágenes

Para el análisis de las muestras se utilizó el microscopio óptico compuesto Leica DMLB acoplado a una cámara Olympus DP70. La imagen podía ser visualizada simultáneamente en el ordenador con el software DP Controller 1.2.1.108, y también almacenada con el software DP Manager 1.2.1.107. Para el estudio de las secciones en el microscopio se utilizaron los objetivos de 2.5x, 10x, 20x y 40x.

Además, los portaobjetos conteniendo las secciones teñidas con hematoxilina-eosina se digitalizaron con el escáner SLIDEVIEW VS200 (Research Slide Scanner, Olympus), utilizando el objetivo de 20x, dotado con una apertura numérica de 0,8. Esta apertura numérica proporciona que la imagen sea ampliamente homogénea y compensa la aberración cromática, permitiendo adquirir imágenes de alta resolución. Las imágenes resultantes incluyen toda la sección y tienen un tamaño de 70148 x 82597 píxeles, y fueron visualizadas a través del software visor de imágenes OLYMPUS OlyVIA 3.3, que permite navegar por toda la muestra, dibujar, cuantificar y realizar mediciones y capturas de imagen de alta calidad con diversos zooms digitales (Figura 10).

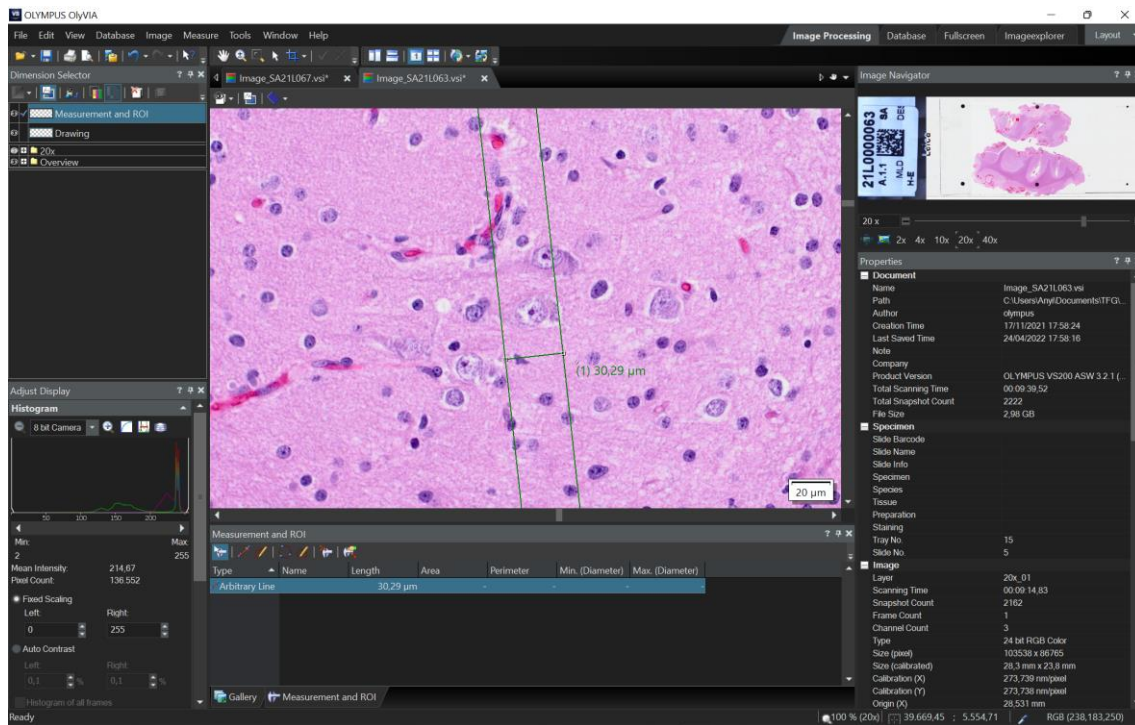


Figura 10. Programa OLYMPUS OlyVIA para el estudio de secciones escaneadas digitalmente. En la imagen se muestra la apariencia del programa donde se visualiza de forma representativa el caso SA21L0000063. Nótese la sección completa en la parte superior derecha y el gran aumento digital en la parte central de la pantalla, donde se mide del diámetro mayor de una neurona teñida con hematoxilina y eosina (30,29 µm).

5.6. Análisis histopatológico y morfométrico

Para el estudio histopatológico de las secciones en el microscopio óptico y mediante el programa OlyVIA se utilizaron como referencia las alteraciones previamente descritas en la displasia cortical focal,^{2,10,13,14,26} tanto a nivel tisular como celular, así como la categorización dentro de los tipos y subtipos según la clasificación de Blümcke et al. (Tabla 4).¹³

Tabla 4. Clasificación de la DCF (Blümcke et al.)¹³

Tipo I: Alteración de la citoarquitectura	Tipo III: Asociación de otras lesiones
Ia Dislaminación radial	IIIa Esclerosis hipocampal
Ib Dislaminación tangencial	IIIb Tumor glial o neuroglial
Ic Dislaminación radial y tangencial	IIIc Malformación vascular
Tipo II: Aparición de neuronas anómalas	III d Otras lesiones adquiridas en la infancia (traumatismos, eventos isquémicos, encefalitis)
IIa Neuronas dismórficas	
IIb Neuronas dismórficas y balonadas	

A nivel celular, se realizó un análisis morfométrico de las células alteradas con el fin de extraer datos cuantificables y establecer una correlación con la interpretación microscópica. Para ello, se capturaron imágenes de alta resolución (2134x1224 píxeles) con el programa OlyVIA, donde se identificaron visualmente neuronas dismórficas y balonadas según la clasificación de (Blümcke et al.)¹³, así como neuronas de apariencia regular. Todas las neuronas seleccionadas para la medición de los descriptores morfométricos cumplieron el criterio de tener el núcleo claramente visible para evitar errores por cuantificación de fragmentos del soma alejados del plano ecuatorial.

Posteriormente, se midieron las siguientes variables morfométricas en cada una de estas neuronas, utilizando el software de procesamiento de imágenes Fiji ImageJ (ImageJ 1.53q): área, perímetro, diámetro máximo, diámetro mínimo y circularidad (Figura 11). En el análisis de resultados se empleó estadística descriptiva mediante el software IBM SPSS Statistics 26.

El procesamiento final de las imágenes se realizó con el programa Fiji ImageJ, y la composición de las figuras del trabajo fue hecho con la aplicación PowerPoint.

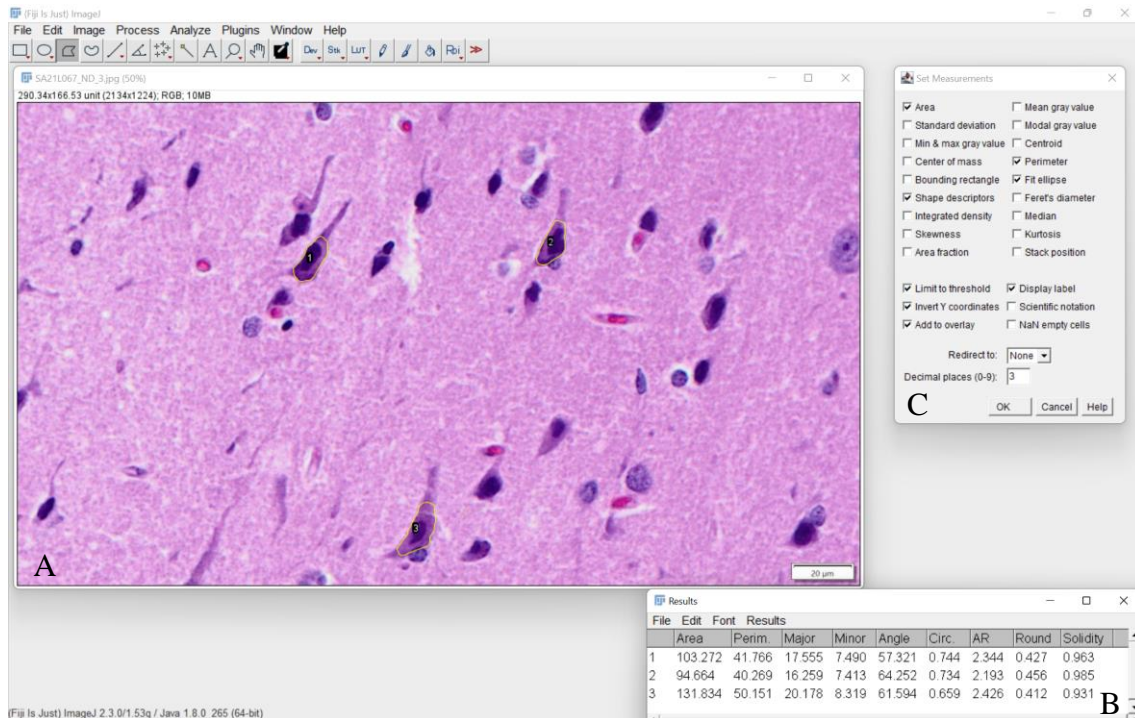


Figura 11. Programa (Fiji Is Just) ImageJ para el análisis morfométrico de las neuronas. En la imagen se muestra el aspecto del programa, donde aparece a modo de ejemplo una captura de imagen del caso SA21L0000067. Dentro de la ventana principal figuran: A) ventana de la imagen, en la que se han seleccionado 3 neuronas consideradas dismórficas; B) Ventana de resultados, que refleja los resultados de la medición de las neuronas seleccionadas; C) Ventana de ajuste de las mediciones, que muestra las medidas recogidas: “Area” (área de la zona seleccionada), “Perimeter” (longitud del límite exterior de la selección), “Fit ellipse” (extrae las características de una elipse ajustada a la selección: diámetro, máximo/mínimo y ángulo) y “Shape descriptors” (calcula diferentes descriptores de forma: circularity, aspect ratio, roundness, solidity). La circularidad se calcula como $4\pi \times \text{área} / \text{perímetro}^2$ y da un valor entre 0 y 1, donde 1 es un círculo perfecto. La unidad de medida es el píxel u otra unidad calibrada, en este caso micras.

6 RESULTADOS

6.1. Características generales de los pacientes

Se estudiaron un total de 13 pacientes (3 hombres y 10 mujeres), con una edad media de 30,6 años (12-51 años). El promedio de edad al primer episodio fue de 6,2 años (3 meses-17 años). El tiempo de evolución de la epilepsia hasta la cirugía fue de media de 24,4 años (12-50 años). Las características individuales de cada paciente se detallan en la tabla 5.

De los 13 casos, 2 fueron clasificados como crisis de inicio generalizado y 11 como crisis de inicio focal (aunque 8 de éstos presentaron en alguna ocasión progresión a crisis generalizada). Dentro de las epilepsias focales, todas ellas cursan con alteración de la conciencia, además la mayoría (9 de ellas) son de inicio no motor. De las crisis generalizadas una es de inicio motor y otra de inicio no motor.

En cuanto a las pruebas complementarias realizadas, el video-EEG evidenció actividad epiléptica en diferentes localizaciones: temporal en 10 de los pacientes (6 bilaterales y 4 izquierdas), frontal bilateral en uno, hemisférica derecha en otro y hemisférica izquierda en el último. La RM mostró lesiones estructurales en todos los casos: 5 esclerosis mesiales temporales izquierdas, 4 esclerosis hipocampales (1 derecha, 3 izquierdas), 1 desdiferenciación cortico-subcortical en el polo temporal derecho, 1 encefalomalacia quística hemisférica izquierda, 1 tumor amigdalino temporal izquierdo y 1 lesión estructural indeterminada en lóbulo temporal derecho.

La resección quirúrgica fue acorde a los resultados de la RM: se realizaron 12 lobectomías temporales (9 izquierdas, 3 derechas) y una hemisferotomía funcional izquierda. 9 de los pacientes contaban con un déficit de memoria visual o verbal antes de la cirugía, que fue empeorado por ésta en solo uno de los casos. La intervención quirúrgica consiguió liberar de crisis incapacitantes de forma completa a 10 pacientes (7 Engel 1A y 3 Engel 1B), y de forma casi completa los 3 restantes.

Tabla 5. Características semiológicas, paraclínicas y quirúrgicas de los pacientes a estudio.

# Caso	Sexo	EI	EC	TC	Clasificación de la epilepsia	FC	Localización en Video-EEG	Lesión en RMN	IQ	Engel
SA21L061	M	0,67	16	15	Crisis focal sensorial (con progresión a crisis atónica o de ausencia)	Hasta 8	Frontal bilateral	Esclerosis mesial temporal izquierda	LTI	IA
SA21L062	M	13	38	25	Crisis focal con alteración de conciencia de inicio motor (con progresión a crisis tónico-clónica bilateral)	Hasta 30	Temporal bilateral	Mala diferenciación córtico-subcortical en polo temporal derecho	LTD	2
SA21L063	M	0,25	12	11	Crisis focal de automatismos, posible encefalopatía epiléptica		Difusa derecha con conducción a región frontal contralateral	Encefalomalacia quística hemisférica izquierda	HFI	2
SA21L064	H	3	45	42	Crisis focal emocional (con progresión a crisis tónica)	Hasta 6	Temporal bilateral	Esclerosis mesial izquierda	LTI	IB
SA21L065	M	12	28	16	Crisis focal con alteración de conciencia autonómica	Hasta 750	Temporal izquierda	Esclerosis hipocampal izquierda y atrofia temporal izquierda	LTI	IB
SA21L066	M	1	39	38	Crisis focal con alteración de la conciencia de inicio no motor con progresión a crisis tónica bilateral	Hasta 150	Temporal bilateral, predominio derecho	Esclerosis hipocampal derecha con atrofia temporal y lesión insular izquierda	LTD	IA
SA21L067	H	12	24	12	Crisis focal con alteración de conciencia emocional (y progresión a crisis tónico-clónica bilateral)	Hasta 12	Temporal izquierda	Esclerosis hipocampal izquierda	LTI	IA
SA21L068	H	5	33	28	Crisis focal con alteración de conciencia sensorial y progresión a crisis clónica		Difusa izquierda	Disminución del volumen mesial temporal izquierdo	LTI	IB
SA21L069	M	3	15	12	Crisis generalizada de ausencia típica	Hasta 90	Temporal izquierda	Tumor amigdalino temporal izquierdo	LTI	2
SA21L070	M	17	43	26	Crisis focal con alteración de la conciencia de inicio no motor con progresión a crisis clónica bilateral	Hasta 60	Temporal bilateral	Lesión estructural temporal derecha	LTD	IA
SA21L071	M	1,5	51	49	Crisis focal con alteración de conciencia de inicio no motor (con progresión a crisis tónico-clónica bilateral)	Hasta 3	Temporal bilateral	Esclerosis mesial temporal izquierda	LTI	IA
SA21L072	M	7	26	19	Crisis generalizada tónica	Hasta 10	Temporal anteromedial izquierda	Esclerosis hipocampal izquierda	LTI	IA
SA21L073	M	5	28	23	Crisis focal con alteración de conciencia emocional	Hasta 4	Temporal izquierda	Esclerosis mesial temporal	LTI	IA

EI: edad de inicio de las crisis (años). EC: edad a la cirugía (años). TC: tiempo de evolución hasta la cirugía (años). FC: frecuencia de las crisis al mes antes de la cirugía. IQ: intervención quirúrgica realizada. LTI: lobectomía temporal izquierda. LTD: lobectomía temporal derecha. HFI: hemisferotomía funcional izquierda.

6.2. Descripción histopatológica de la corteza

La apariencia microscópica de las 13 piezas estudiadas resultó muy similar y se puede resumir en las siguientes características.

6.2.1. Alteraciones en la citoarquitectura cortical

La corteza cerebral presenta en todos los casos extensas áreas de dislaminación, que puede ser radial o tangencial (Figura 12). Asimismo, se observa el borramiento del límite entre la sustancia gris y blanca y la presencia de cuerpos neuronales ectópicos tanto en la capa molecular como en la sustancia blanca (Figura 13B). Destaca además la pérdida de la relación entre los cuerpos neuronales y tanto las células gliales (Figura 13C) como el neuropilo (Figura 13D).

6.2.2. Alteraciones en las células nerviosas

A nivel celular se ve la presencia de dimorfismo de los cuerpos neuronales (Figura 14B), los cuales pueden verse elongados y fusiformes, aumentados de tamaño o desorientados con respecto a la superficie cortical (Figura 13A). También se pueden apreciar cuerpos neuronales de aspecto balonizado (Figura 14C), así como neuronas inmaduras formando microcolumnas (Figura 14D). En algunas áreas los somas muestran polimorfismo, observándose diferentes formas y tamaños (Figura 15A), y en la sustancia blanca de determinados casos incluso se pueden apreciar alteraciones en la morfología de las células gliales (Figura 15B).

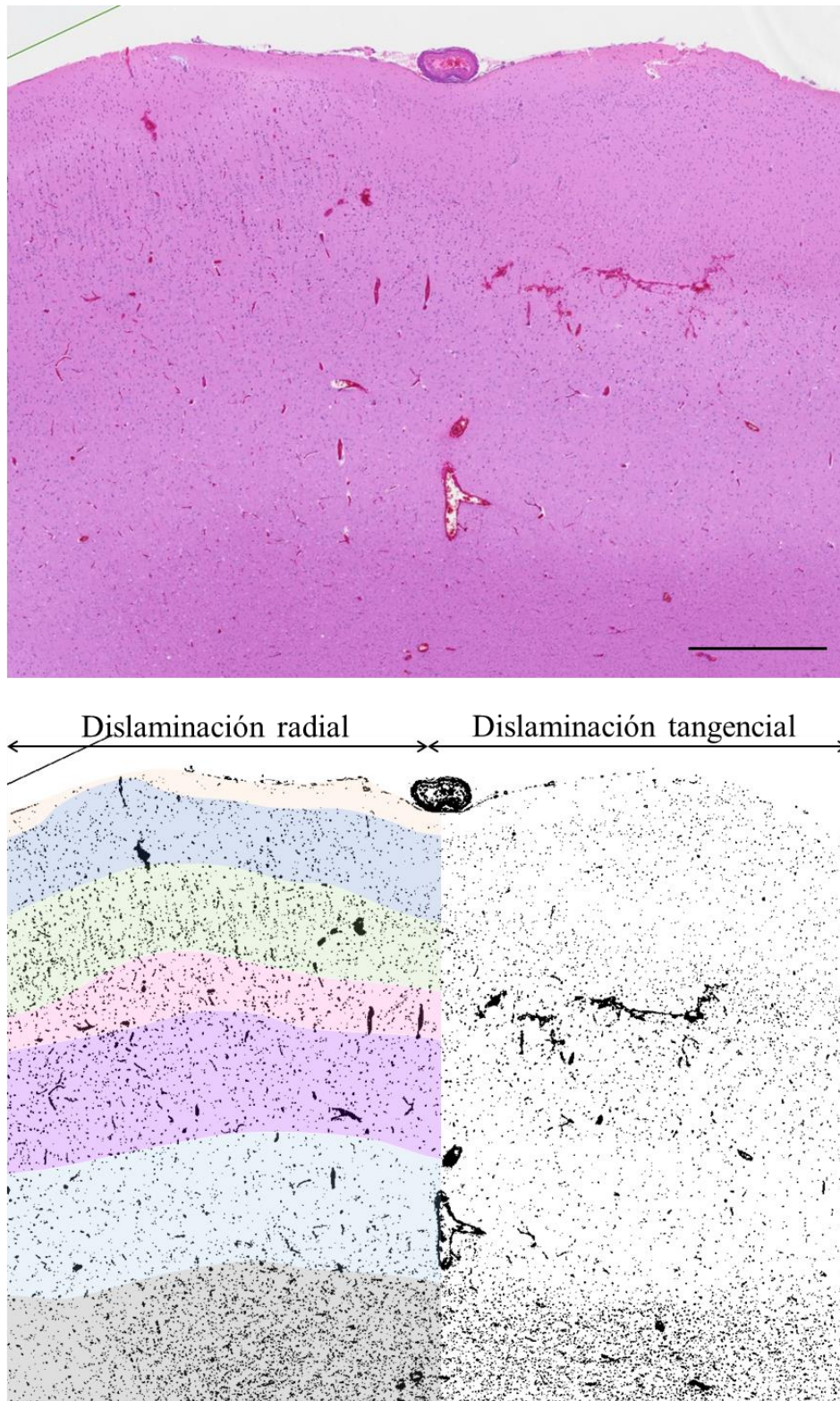


Figura 12. Cambios en la citoarquitectura cortical del lóbulo temporal (caso SA21L067). Se muestra la pérdida de la laminación en una misma sección, junto a su correspondiente representación esquemática. En el lado izquierdo pueden distinguirse las 6 capas corticales y se puede observar la dislaminación radial (a pesar de que su diagnóstico requiere un marcaje inmunohistoquímico con el antígeno NeuN). En el derecho, la organización columnar desaparece y no se pueden identificar todas las capas de la corteza. Escala gráfica: 1mm.

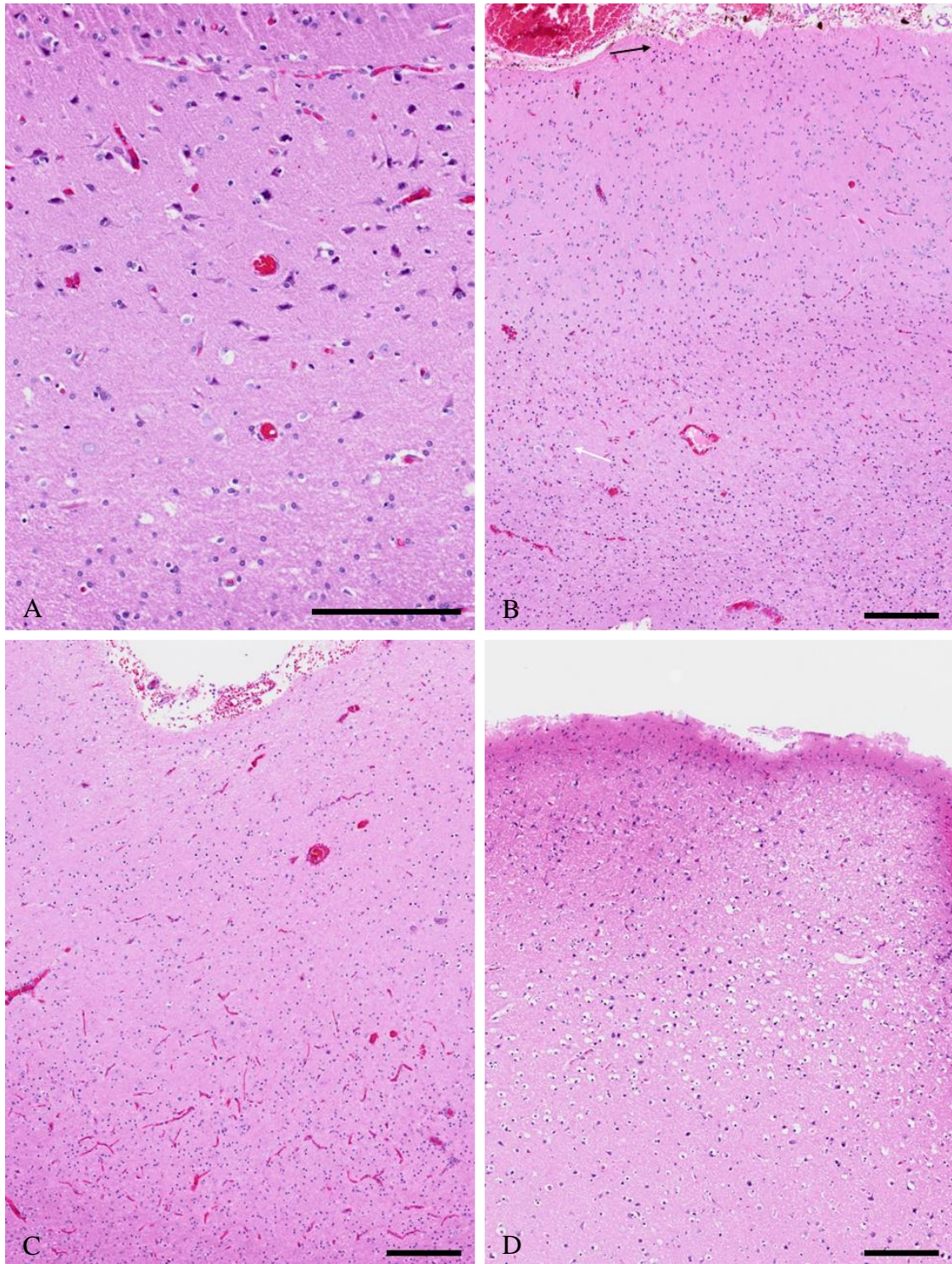


Figura 13. Otras alteraciones encontradas a nivel tisular. A) Despolarización: micrografía del caso SA21L062, que evidencia la pérdida de la polaridad de las neuronas dismórficas (su eje principal no se orienta perpendicularmente a la superficie cortical). B) Heteretopía: micrografía del caso SA21L063, en la que se puede observar la presencia de neuronas ectópicas, tanto en la capa molecular (flecha negra) como en la sustancia blanca (flecha azul); nótese también el borramiento del límite entre la sustancia gris y blanca. C) Gliosis: micrografía del caso SA21L063, donde destaca la baja densidad neuronal, así como el incremento en el número de células de la glía. D) Espongiosis: micrografía del caso SA21L063, que muestra un aspecto esponjiforme debido a la vacuolización del neuropilo (región comprendida entre los somas). Escala gráfica: 200 μ m.

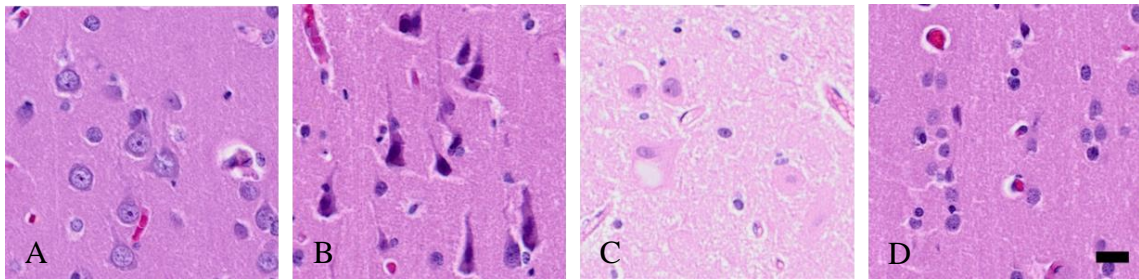


Figura 14. Tipos neuronales presentes en la DCF. A) Células de apariencia regular: las células recogidas en este estudio clasificadas como neuronas regulares son mayoritariamente células de aspecto granular, grandes y con un núcleo vesiculoso y un nucleolo prominente. B) Células dismórficas: tienen un tamaño aumentado, una forma irregular y agregados de Nissl, además presentan despolarización. C) Células balonadas: presentan un gran tamaño y un citoplasma eosinófilo. C) Células inmaduras: neuronas pequeñas y redondeadas que se agrupan en microcolumnas. Escala gráfica: 20 μm .

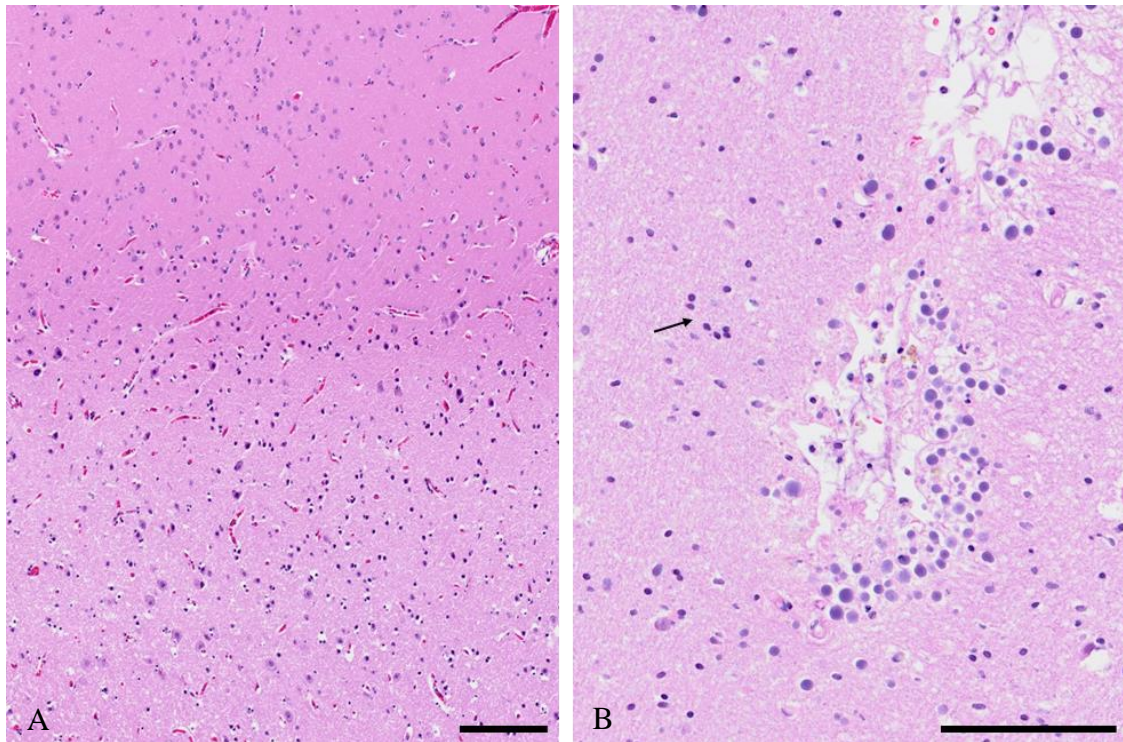


Figura 15. Otras alteraciones encontradas a nivel celular. A) Pleomorfismo: micrografía del caso SA21L070, que muestra la variabilidad en la morfología de las neuronas. B) Atipia: micrografía del caso SA21L062, se muestra una ampliación de la sustancia blanca donde destacan células gliales de aspecto atípico en comparación con los oligodendrocitos normales (flecha). Escala gráfica: 200 μm .

6.3. Clasificación histopatológica

Se identificaron alteraciones en la citoarquitectura, así como células dismórficas y balonadas en todos los casos, por lo que todas las muestras se clasificarían dentro la DCF tipo IIb. Sin embargo, la clínica y las pruebas complementarias constatan otras lesiones asociadas, lo que reclasifica estas displasias al tipo III. Los elementos clasificatorios de cada caso figuran en la tabla 6.

Tabla 6. Clasificación de la displasia cortical focal de los pacientes a estudio.

# Caso	Dislaminación		Alt. celular		Alteraciones asociadas	Clasificación DCF
	Radial	Tangencial	ND	NB		
SA21L061	Si	Si	Si	Si	EMT	IIIa
SA21L062	No	Si	Si	Si	No	IIb
SA21L063	No	Si	Si	Si	Encefalomalacia quística	III d
SA21L064	No	Si	Si	Si	EMT	IIIa
SA21L065	Si	Si	Si	Si	EH	IIIa
SA21L066	Si	Si	Si	Si	EH	IIIa
SA21L067	Si	Si	Si	Si	EH	IIIa
SA21L068	Si	Si	Si	Si	No	IIb
SA21L069	Si	Si	Si	Si	Tumor amigdalino	III b
SA21L070	Si	Si	Si	Si	No	IIb
SA21L071	Si	Si	Si	Si	EMT	IIIa
SA21L072	No	Si	Si	Si	EH	IIIa
SA21L073	No	Si	Si	Si	EMT	IIIa

ND: neurona dismórfica. NB: neurona valonada. EMT: esclerosis mesial temporal. EH: esclerosis hipocampal.

6.4. Estudio morfométrico

Se analizaron 20 células de cada tipo en cada una de las muestras, un total de 780. Cada población celular (n=260) se estudió separadamente, los descriptores estadísticos figuran en las tablas 7-9.

Tabla 7. Descripción cuantitativa de la morfología de las células regulares

	<i>Media</i>	<i>Mediana</i>	<i>DE</i>	<i>RI</i>	<i>Valor mínimo</i>	<i>Valor máximo</i>
Área	113,368	102,837	58,497	67,453	19,307	343,838
Perímetro	37,385	36,836	9,695	11,888	16,250	66,463
D_{máx}	12,899	12,476	3,330	4,199	5,855	22,348
D_{mín}	10,511	10,491	2,990	3,287	3,829	20,066
Circularidad	0,951	0,961	0,034	0,033	0,729	0,986

Tabla 8. Descripción cuantitativa de la morfología de las células dismórficas

	<i>Media</i>	<i>Mediana</i>	<i>DE</i>	<i>RI</i>	<i>Valor mínimo</i>	<i>Valor máximo</i>
Área	136,083	126,577	54,943	64,024	38,225	396,464
Perímetro	46,996	45,422	10,011	11,577	23,918	91,513
D_{máx}	17,755	16,700	4,637	5,396	9,327	42,084
D_{mín}	9,606	9,541	2,301	2,579	4,211	17,992
Circularidad	0,756	0,764	0,096	0,130	0,480	0,978

Tabla 9. Descripción cuantitativa de la morfología de las células balonadas

	<i>Media</i>	<i>Mediana</i>	<i>DE</i>	<i>RI</i>	<i>Valor mínimo</i>	<i>Valor máximo</i>
Área	154,349	137,610	80,3681	76,242	52,626	644,639
Perímetro	44,806	43,008	10,7523	12,237	27,142	94,881
D_{máx}	16,231	15,400	4,1706	5,146	9,009	34,721
D_{mín}	11,550	11,197	2,8714	3,377	5,769	23,640
Circularidad	0,917	0,928	0,0462	0,057	0,713	0,984

DE: desviación estándar. RI: rango intercuartil. D_{máx}: diámetro máximo. D_{mín}: diámetro mínimo. El área se muestra en μm^2 , mientras que el perímetro y ambos diámetros se presentan en μm .

También se compararon cada uno de los descriptores de forma (área, perímetro, diámetros máximo y mínimo y circularidad) de las neuronas regulares (NR), neuronas dismórficas (ND) y neuronas balonadas (NB). Esta comparativa se representa en los gráficos 1-4.

Gráfico 1. Comparación de la mediana del área entre los tres tipos celulares.

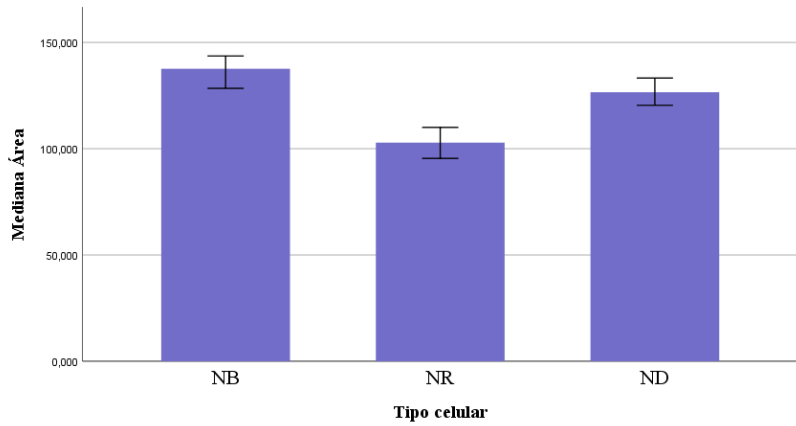


Gráfico 2. Comparación de la mediana del perímetro entre los tres tipos celulares.

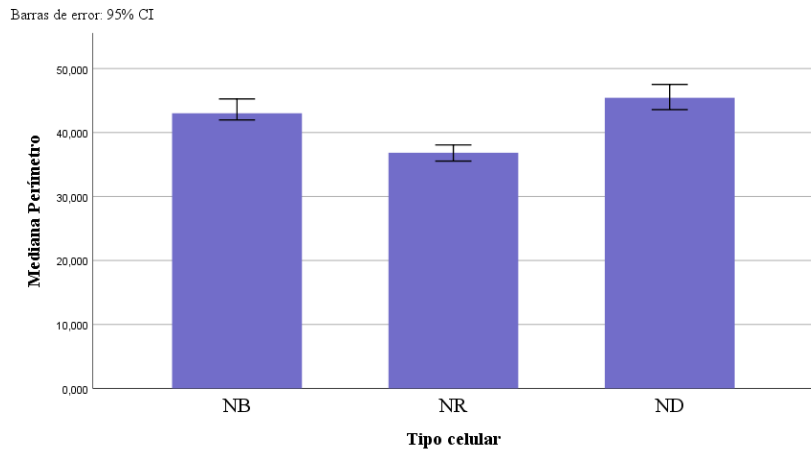


Gráfico 3. Comparación de la mediana del diámetro mínimo y máximo entre los tres tipos celulares.

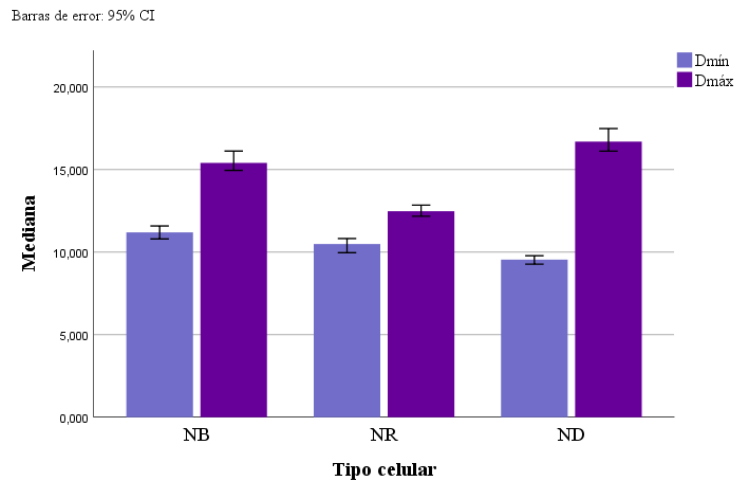
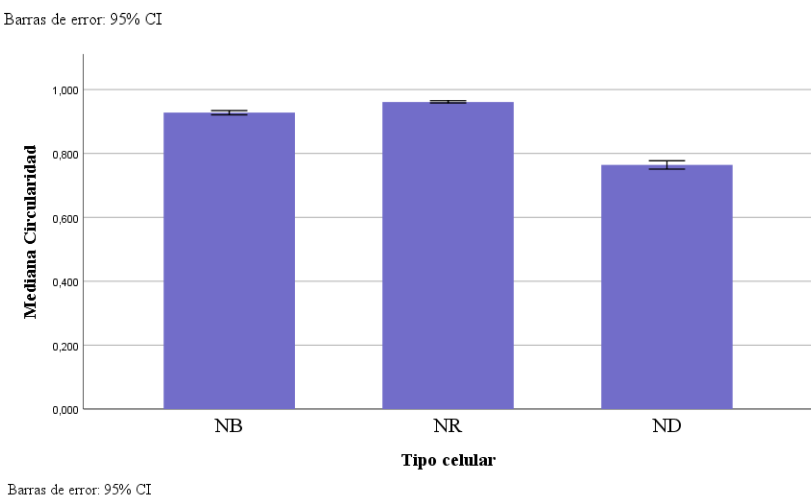


Gráfico 4. Comparación de la mediana de la circularidad entre los tres tipos celulares.



7 DISCUSIÓN

En el presente trabajo se han analizado las características de una serie de 13 pacientes con epilepsia farmacorresistente que han sido sometidos a cirugía del lóbulo temporal. Este estudio abarca tanto el análisis histológico como clínico, con el objetivo de establecer una relación entre ambos que sea de utilidad en la práctica clínica.

7.1. Interpretación microscópica y análisis morfométrico

El tejido celular muestra características de displasia cortical focal, las cuales se evidencian tanto de manera cuantitativa como cualitativa. En el análisis morfométrico queda reflejado que el área y el perímetro están aumentados tanto en las neuronas dismórficas como en las balonadas, comparadas con las células regulares. El diámetro mínimo y máximo también es mayor y, además, la diferencia entre estos es mucho más marcada en las células dismórficas, dada la irregularidad de su forma. Esto último también queda patente en la circularidad, ya que las neuronas balonadas y regulares presentan una circularidad cercana a 1, y la de las células dismórficas es mucho menor.

Este enfoque digital permite cuantificar las propiedades morfológicas de las células en una patología donde la identificación de las primeras es crucial para el diagnóstico y clasificación de la segunda. Estos datos son coherentes con las descripciones de las células de la DCF que figuran en la literatura,^{2,10,13,14,26} con la ventaja de que no se basan en datos subjetivos que dependen de la variabilidad interindividual del observador. Por ello, pueden integrarse en una perspectiva multidisciplinar y deducir nuevas correlaciones sobre los cambios moleculares que ocurren en la célula y causan su transformación.

7.2. Correlación clínico-histopatológica

La clínica de la epilepsia temporal está ampliamente descrita. Clásicamente se presenta como crisis focales que pueden aparecer de forma aislada, pero que frecuentemente progresan a pérdida de la conciencia o a una crisis generalizada. Los síntomas ictales que se presentan en más del 90% de los pacientes incluyen, en orden de frecuencia: aura epigástrica ascendente, sensaciones complejas como miedo o *déjà vu*, alucinaciones auditivas o visuales, alucinaciones olfatorias o gustativas y alteraciones autonómicas. En cuanto a los signos, por orden de frecuencia podemos encontrar: automatismos, alteraciones autonómicas, disartrias, desviación de la mano u el ojo o posturas distónicas, ausencias y parestias unilaterales.^{27,28} En los pacientes estudiados en este trabajo encontramos características similares: el 85% presentaban crisis focales, además de

pérdida de la conciencia o progresión a crisis generalizada en la mayoría de los casos. De las crisis focales, el 82% se manifestaban mediante síntomas no motores, ya sean sensoriales (22%), emocionales (33%), autonómicos (11%), o una combinación de varios (33%). También presentaron con frecuencia síntomas post-ictales, más frecuentes en las epilepsias temporales que en las extratemporales.²⁸

Las manifestaciones clínicas también se relacionan con las características de la DCF: cuanto mayor es el grado y extensión de la displasia antes se presentan los síntomas. Además, tanto la clínica como las pruebas complementarias sugieren que la DCF tipo I está más asociada a la localización temporal, mientras que la DCF tipo II se observa más en epilepsias extratemporales.^{20,29} Esto último es especialmente notorio, ya que todos nuestros casos presentan una localización temporal del foco epiléptico, y sin embargo en todos ellos se han encontrado células características de la DCF tipo II. También cabe destacar que el estudio anterior²⁰ niega que ningún sexo o lado prevalezca sobre el otro, mientras en la muestra estudiada el 77% de los pacientes son mujeres y el 85% tienen afectación izquierda o bilateral. Todas estas discordancias se dan probablemente por el escaso tamaño muestral.

La incidencia de DCF encontradas en pacientes epilépticos tratados quirúrgicamente oscila entre el 12 y el 40%, y el control de las crisis de consiguen entre el 63 y 80% de los pacientes.^{23,29} La eficacia quirúrgica en nuestros pacientes corrobora los buenos resultados publicados anteriormente, ya que el 54% no sufrió más crisis, el 23% quedó libre de crisis incapacitantes y el 23% restante redujo la frecuencia de crisis incapacitantes a ocasionales. Las secuelas neurológicas de la cirugía son habituales, sin embargo, solo se han registrado en uno de los 13 pacientes estudiados.

7.3. Limitaciones del estudio

Una de las principales limitaciones del estudio es su reducido tamaño muestral. Además de esto, la procedencia (Guatemala) y variabilidad poblacional de los pacientes podría afectar a los resultados o a su validez externa. No obstante, en solo uno de los casos hay registrados antecedentes familiares de la enfermedad, por lo que es poco probable que tengan un componente familiar.

Por otro lado, al tratarse de un estudio descriptivo, no se puede afirmar que los resultados no puedan observarse en personas sanas, aunque la literatura refleja lo contrario.

Otro obstáculo encontrado es que la información contenida en las historias clínicas no llega a ser esclarecedora en varios aspectos, por lo que faltan datos para poder realizar una comparación exhaustiva.

En cuanto al análisis morfométrico, este se centra solo en la morfología de las células, en lugar de en todo el conjunto de alteraciones de la DCF. Un análisis similar podría realizarse con otros elementos. Por otra parte, las células se miden con relación a una clasificación previa, por lo que sigue habiendo un componente subjetivo. Dado que en este estudio el observador es inexperto, es esperable que se hayan seleccionado las células más características de cada tipo y no una muestra con una alta validez interna. Tampoco sorprende que los resultados concuerden con relaciones ya establecidas entre la morfología celular y el tipo.

7.4. Líneas futuras de investigación

Dadas las limitaciones del estudio son necesarios más estudios prospectivos, con mayores tamaños muestrales y mejores criterios de selección de pacientes, así como de análisis morfométrico, para determinar la aplicabilidad de estos análisis en la práctica clínica diaria.

Finalmente, la mayoría de las epilepsias consideradas “criptogénicas” o “no lesionales” son debidas a la DCF.³⁰ Si bien las técnicas de neuroimagen han avanzado mucho en los últimos años y cada vez se pueden diagnosticar más displasias con estas pruebas, todavía presentan problemas en diagnosticar lesiones de pequeño tamaño o en delimitar las lesiones más amplias.²⁹ Por ello, para poder disponer de un método diagnóstico de alta sensibilidad y especificidad es clave investigar las alteraciones histopatológicas mediante, por ejemplo, técnicas de inmunohistoquímica o MALDI imaging, con el fin de determinar biomarcadores que ayuden a entender los mecanismos subyacentes a la epilepsia refractaria, así como a desarrollar nuevos procedimientos diagnósticos y terapéuticos.

8 CONCLUSIONES

1. El estudio histológico de las piezas operatorias mostró hallazgos compatibles con la displasia cortical focal.
2. El análisis morfométrico de las células alteradas reafirma las características de la DCF de forma más objetiva que la evaluación cualitativa.
3. Las características clínicas y paraclínicas de los pacientes concuerdan con la localización, no así con las características de la lesión.
4. La resección quirúrgica de la lesión consiguió el control de las crisis en todos los casos.
5. La clasificación histológica actual pretende una mejor correlación entre la displasia y las pruebas complementarias, implementando las alteraciones asociadas. Sin embargo, esta clasificación todavía se enfrenta a varios retos.
6. Aunque las DCF se reflejen en la RM, esta no puede discernir los subtipos histológicos ni diagnosticar todas las DCF.
7. El desarrollo de técnicas moleculares puede derivar en una mejor comprensión de los pacientes con epilepsia refractaria, lo que se vería traducido en mejoras en el diagnóstico y tratamiento de estos.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. Micheli FE, Fernández Pardal MM. Neurología. 2ª ed. Neurología. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 87–109.
2. Gálvez M M, Rojas C G, Cordovez M J, Ladrón de Guevara D, Campos P M, López S I. DISPLASIAS CORTICALES COMO CAUSA DE EPILEPSIA Y SUS REPRESENTACIONES EN LAS IMÁGENES. *Revista chilena de radiología*. 2009;15.
3. Falco-Walter J. Epilepsy—Definition, Classification, Pathophysiology, and Epidemiology. *Seminars in Neurology*. 2020 Dec 5;40(06):617–23.
4. Sheng J, Liu S, Qin H, Li B, Zhang X. Drug-Resistant Epilepsy and Surgery. *Current Neuropharmacology*. 2017 Dec 14;16(1).
5. Caraballo R, Cersónimo RÓ. Atlas de Electroencefalografía en la epilepsia. 1ª ed. Atlas de Electroencefalografía en la epilepsia. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2011. p. 1–13.
6. López González FJ, Rodríguez Osorio X, Gil-Nagel Rein A, Carreño Martínez M, Serratos Fernández J, Villanueva Haba V, et al. Epilepsia resistente a fármacos. Concepto y alternativas terapéuticas. *Neurología*. 2015 Sep;30(7):439–46.
7. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2009 Nov 3;51(6):1069–77.
8. Yoo JY, Panov F. Identification and Treatment of Drug-Resistant Epilepsy. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*. 2019 Apr;25(2):362–80.
9. Kaido T, Otsuki T, Kakita A, Sugai K, Saito Y, Sakakibara T, et al. Novel pathological abnormalities of deep brain structures including dysplastic neurons in anterior striatum associated with focal cortical dysplasia in epilepsy. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*. 2012 Sep;10(3):217–25.
10. al Sufiani F, Ang LC. Neuropathology of Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Research and Treatment*. 2012 Apr 12;2012:1–13.

11. Geneser F, Brüel A, Christensen EI, Trandum-Jensen J, Qvortrup K. Geneser histología. 4ª ed. Geneser histología. Editorial Médica Panamericana; 2015. p. 315–362.
12. Gartner LP, Hiatt JL. Atlas en color y texto de histología. 6ª ed. Atlas en color y texto de histología. Editorial Médica Panamericana; 2015. p. 150–172.
13. Blümcke I, Thom M, Aronica E, Armstrong DD, Vinters H v., Palmini A, et al. The clinicopathologic spectrum of focal cortical dysplasias: A consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission1. *Epilepsia*. 2011 Jan;52(1):158–74.
14. Kim SH, Choi J. Pathological Classification of Focal Cortical Dysplasia (FCD): Personal Comments for Well Understanding FCD Classification. *J Korean Neurosurg Soc*. 2019 May 1;62(3):288–95.
15. Collan Y. Morphometry in Pathology: Another Look at Diagnostic Histopathology. *Pathology - Research and Practice* . 1984 Nov;179(2):189–92.
16. Kong J, Cooper LAD, Wang F, Gao J, Teodoro G, Scarpace L, et al. Machine-Based Morphologic Analysis of Glioblastoma Using Whole-Slide Pathology Images Uncovers Clinically Relevant Molecular Correlates. Andrade-Navarro MA, editor. *PLoS ONE*. 2013 Nov 13;8(11):e81049.
17. Yu H, Lim KP, Xiong S, Tan LP, Shim W. Functional Morphometric Analysis in Cellular Behaviors: Shape and Size Matter. *Advanced Healthcare Materials*. 2013 Sep;2(9):1188–97.
18. Najm IM, Sarnat HB, Blümcke I. Review: The international consensus classification of Focal Cortical Dysplasia - a critical update 2018. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2018 Feb;44(1):18–31.
19. Fisher RS, Boas W van E, 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 Apr;46(4):470–2.
20. Kabat J, Król P. Focal cortical dysplasia - review. *Pol J Radiol*. 2012 Apr [cited 2022 Apr 19];77(2):35–43.

21. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017 Apr 8;58(4):522–30.
22. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017 Apr 8;58(4):512–21.
23. Barreto-Acevedo E, Villafuerte-Espinoza M, Becerra-Zegarra A, Díaz-Vásquez A, Hernández-Vizarreta J, Llaja-Rojas V. Cirugía resectiva de epilepsia lesional focal: Estudio en pacientes adultos del Seguro Social del Perú. *Revista de Neuro-Psiquiatria*. 2017 Apr 6;80(1):12.
24. Automated H&E Staining with Dako CoverStainer | Agilent [Internet]. [consultado 2022 May 18]. Available from: <https://www.agilent.com/en/product/hematoxylin-eosin>
25. Deller T, Welsch U. Sobotta. *Histología*. Con la colaboración de Thomas Deller. 3ª ed. Editorial Médica Panamericana. Editorial Médica Panamericana ; 2014. p. 1–11.
26. Coras R, Holthausen H, Sarnat HB. Focal cortical dysplasia type 1. *Brain Pathology*. 2021 Jul;31(4).
27. Blair RDG. Temporal Lobe Epilepsy Semiology. *Epilepsy Research and Treatment*. 2012 Mar 7;2012:1–10.
28. Panayiotopoulos CP. Symptomatic and cryptogenic (probably symptomatic) focal epilepsies. In: *A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment*. 2ª ed. London: Springer London; 2010. p. 435–96.
29. Pascual-Castroviejo I, Hernández-Moneo JL, Gutiérrez-Molina ML, Viaño J, Pascual-Pascual SI, Velazquez-Fragua R, et al. Displasia cortical focal. Correlaciones clínico-radiológicas-patológicas. *Neurología*. 2012 Oct;27(8):472–80.

30. Panadés-de Oliveira L, Gómez-Porro Sánchez P, Martínez Campos E. Epilepsia. En: Manual de Neurología y Neurocirugía. 15ª ed. Academia de estudios MIR; 2021. p. 92–100.