

11281
201
7



**Universidad Nacional Autónoma
de México**

Facultad de Medicina

Unidad de Investigaciones Cerebrales

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía

MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA

"ESTUDIO MICROIONTOFORÉTICO EN EL KINDLING CORTICAL"

T E S I S

**Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Biomédicas**

p r e s e n t a

HUGO SOLIS

Asesor de Tesis: Dr. Roberto A. Prado Alcalá

México, D. F.

1988

FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE
CAPITULO 1

	página
Resumen.....	1
Introducción.....	3
Fisiología del foco epiléptico.....	6
Inducción del foco epiléptico por la administración sistémica de sustancias convulsionantes.....	15
Pentilentetrazol	
L-glutamato monosódico	
Bicuculina	
Estrichina	
Solventes orgánicos	
Rojo de rutenio	
4-aminopiridina	
Inducción del proceso epiléptico por la aplicación tópica de sustancias irritantes.....	33
Penicilina	
Crema de Alúmina	
Cobalto	
Picrotoxina	
Acido kainico	
Producción del proceso epiléptico mediante la estimulación eléctrica.....	41
Electrochoque	
Kindling (estimulación eléctrica subliminal)	
Utilización de cepas mutantes en algunas especies animales como modelos naturales de epilepsia.....	50
Fotosensibilidad en el babuino papio-papio	
Crisis convulsivas en el gerbil (Meriones unguiculatus)	
Sensibilidad acústica de ratones	

CAPITULO 2
Sección Experimental

Estudio microiontoforético en un modelo de epilepsia experimental (Kindling cortical).....	58
---	----

CAPITULO 3

Resultados.....	62
-----------------	----

CAPITULO 4

Discusión.....	72
Referencias bibliográficas.....	76

Resumen

La limitación natural que existe al intentar estudiar la epilepsia en humanos, mediante técnicas invasivas o ensayos farmacológicos, ha creado la necesidad de buscar modelos experimentales de epilepsia humana. El desarrollo de estos modelos experimentales de epilepsia ha sido posible por el empleo de técnicas consideradas tradicionalmente particulares a una disciplina y que en la actualidad son compartidas por todas las neurociencias.

El estudio controlado y sistematizado de dichos modelos tiene tres aplicaciones fundamentales: a) en el estudio de los mecanismos neuronales que, en condiciones normales, se relacionan con la regulación de la excitabilidad neuronal del sistema nervioso central y con la regulación de la actividad motora; b) en el estudio de los mecanismos básicos implicados en la generación y/o autosupresión de las crisis epilépticas, sean o no convulsivas, y c) en el ensayo de drogas antiepilépticas que pudieran tener una aplicación efectiva en la terapéutica de la epilepsia en humanos.

El presente trabajo resume parte de los diferentes modelos experimentales de epilepsia que frecuentemente se usan, considerando sus ventajas y desventajas. Asimismo, considera como parte experimental, el uso de uno de estos modelos (Kindling) para tratar de entender la participación de los mecanismos colinérgicos en la epileptogénesis.

Summary

Due to the natural limitation to study epilepsy in human beings using surgical procedures or pharmacological assays, the development of experimental models of epilepsy has achieved significant progress. Many "experimental animal models of epilepsy", which involve a variety of methods belong to neuroscience, producing acute and chronic preparations in a number of species having different degrees of CNS complexity, have been described.

The experimental models of epilepsy have been particularly useful in : a) to obtain knowledge about the neuronal mechanisms related to normal brain excitability, b) to study the neurophysiological aspects of epileptic activity, (on the biophysical side of neurophysiology one may mention the phenomenon of the paroxysmal depolarization shift "PD"), and c) for the evaluation of a new antiepileptic drug.

This paper describes some of the experimental models of epilepsy considering their usefulness and disadvantages. It further presents an experimental study using the kindling model in order to understand the role of cholinergic mechanisms in epileptogenesis.

CAPITULO I

Introducción

Las epilepsias se han definido como alteraciones paroxísticas de la función cerebral, recurrentes y autosostenidas, caracterizadas por la descarga excesiva de las neuronas del sistema nervioso central (SNC). Las manifestaciones clínicas y eléctricas varían en función del tipo de circuitos neuronales implicados y del patrón de propagación y sincronización neuronal en el cerebro. Es importante tener en cuenta que existe una gran cantidad de padecimientos que cursan con crisis epileptiformes, que no pueden ser consideradas epilépticas por no poseer las características mencionadas.

La limitación natural que existe al intentar estudiar la epilepsia en humanos, mediante técnicas invasivas o ensayos farmacológicos, ha creado la necesidad de buscar modelos experimentales de epilepsia que semejen a la epilepsia humana.

Para desarrollar un modelo experimental de epilepsia, generalmente se eligen mamíferos que presenten manifestaciones eléctricas y conductuales similares a las de la epilepsia humana. Dado que la conducta animal y la humana tienen considerables diferencias, muchas veces no es posible evaluar satisfactoriamente las manifestaciones conductuales en los modelos experimentales de epilepsia, sobre todo si hay ausencia de actividad motora. En estos casos, el criterio principal está dado por la identificación de las manifestaciones eléctricas del

Un modelo experimental se considera como modelo de epilepsia verdadera cuando las alteraciones paroxísticas son "espontáneamente" recurrentes.

En la actualidad, los modelos de epilepsia verdadera más estudiados son: el provocado por la estimulación eléctrica repetitiva y subumbral (Kindling) y los inducidos por la aplicación tópica de crema de alúmina o polvo de cobalto en la corteza cerebral. Sin embargo, existe una gran variedad de modelos experimentales en los que es posible inducir, en forma aguda, un número variable de crisis convulsivas apreciables conductual y/o electrofisiológicamente. Dado que estos modelos no son espontáneamente recurrentes y, por tanto, no son crónicos, sería más apropiado denominarlos modelos experimentales de crisis epileptiformes.

En lo que sigue se hará referencia a los "modelos experimentales de epilepsia verdadera" y a los "modelos experimentales de crisis epileptiformes" con el nombre genérico de modelos experimentales de epilepsia (MEE).

Los MEE se pueden clasificar al considerar tres criterios principales: a) el procedimiento de inducción, b) los mecanismos neuronales implicados en su producción, y c) las manifestaciones conductuales.

1. Los MEE pueden clasificarse en dos categorías: los inducidos

por agentes físicos y los inducidos por agentes químicos. En la primera categoría, los agentes físicos pueden afectar receptores sensoriales (como en la epilepsia refleja o afectar directamente áreas encefálicas (como en el electrochoque). A su vez, la categoría de MEE inducidos por agentes químicos incluye a los provocados por la aplicación tópica (penicilina, crema de alúmina, etc.) o por la administración intraventricular (potasio, ouabaina, etc.) intracisternal (rojo de rutenio, etc.) o sistémica (pentilentetrazol, bicuculina, picrotoxina, etc.) o bien a los inducidos por supresión de la administración de un agente químico (barbitúricos, etanol, etc.) o por carencia metabólica de otros (piridoxina, calcio, etc.).

2. Al considerar el tipo de mecanismos implicados en la producción de las crisis, los MEE generalmente pueden ser provocados por la interferencia en la función de sinapsis inhibitorias o excitatorias específicas (bicuculina, estriquina, etc.) o por alteraciones inespecíficas de la excitabilidad neuronal (electrochoque, etc.). Otros agentes que producen las crisis pueden alterar el metabolismo neuronal (hidrazonas del fosfato de piridoxal, alilglicina, etc.) o destruir las neuronas inhibitorias (crema de alúmina, etc.).

3. Finalmente, pueden identificarse MEE sin manifestaciones motoras o con ellas. En el primer caso, la validez del modelo está dada por la caracterización eléctrica de la crisis, mientras que en el segundo, las manifestaciones pueden incluir crisis

paroxísticas de actividad motora, como carrera compulsiva, actividad tónica, actividad clónica o combinaciones de éstas. También debe considerarse si las manifestaciones motoras son focalizadas, generalizadas o inicialmente focalizadas y secundariamente generalizadas; asimismo, si se presentan de una manera crónica o aguda (Tabla I).

En la actualidad, el estudio controlado y sistematizado de los MEE ha tenido tres aplicaciones fundamentales:

- a) En el ensayo de drogas anticonvulsivantes que pudieran tener una aplicación efectiva en la terapéutica de la epilepsia en humanos.
- b) En el estudio de los mecanismos neuronales básicos implicados en la generación y autosupresión de las crisis epilépticas, sean o no convulsivantes. A pesar de los diversos mecanismos de inducción o precipitación de las crisis y de la variedad de manifestaciones eléctricas y clínicas, debe haber factores comunes implicados en los mecanismos básicos de todas las crisis.
- c) En el estudio de los mecanismos neuronales que en condiciones normales se relacionan con la regulación de la excitabilidad en el SNC y de la actividad motora.

Fisiología del foco epiléptico

Un proceso epiléptico se identifica por la aparición de espigas epilépticas interictales o de descargas paroxísticas de diversa morfología en el electroencefalograma (EEG). La actividad interictal se transforma algunas veces en descargas repetitivas,

T A B L A I

CRITERIOS DE CLASIFICACION DE LOS MODELOS DE EPILEPSIA

A. DE ACUERDO A LAS MANIFESTACIONES

1. SIN MANIFESTACIONES MOTORAS

- I. AGUDOS
- II. CRONICOS

2. CON MANIFESTACIONES MOTORAS

a. FOCALIZADAS

- I. AGUDOS
- II. CRONICOS

b. GENERALIZADAS

- I. AGUDOS
- II. CRONICOS

B. DE ACUERDO AL PROCEDIMIENTO DE INDUCCION

1. POR AGENTES FISICOS

- a. QUE AFECTAN RECEPTORES SENSORIALES ESPECIFICOS
- b. QUE AFECTAN DIRECTAMENTE AREAS ENCEFALICAS

2. POR AGENTES QUIMICOS

- a. APLICADOS TOPICAMENTE
- b. ADMINISTRADOS INTRAVENTRICULAR O INTRACISTERNAL
- c. ADMINISTRADOS SISTEMICAMENTE
- d. SUPRIMIDOS EN SU ADMINISTRACION HABITUAL
- e. DEFICIENTES O AUSENTES EN EL METABOLISMO

C. DE ACUERDO A LOS MECANISMOS NEURONALES INVOLUCRADOS EN SU PRODUCCION

1. POR INTERFERENCIA EN LA FUNCION SINAPTICA
2. POR ALTERACIONES INESPECIFICAS DE LA EXCITABILIDAD NEURONAL
3. POR ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL
4. POR DESTRUCCION DE NEURONAS INHIBITORIAS
5. NO DETERMINADOS

las cuales pueden ser locales o se pueden propagar a otras áreas del cerebro con intensidad variable. La actividad paroxística se acompaña de la manifestación clínica conocida con el nombre de crisis convulsiva. Esta crisis es provocada por cambios en la excitabilidad de un conjunto de neuronas. Cabe preguntar cuál es el patrón de actividad de los elementos neuronales que generan un foco epiléptico y en qué medida difiere de lo normal. A continuación se tratará de responder a dicha pregunta.

La comunicación celular se lleva a cabo mediante un potencial de acción generado por una neurona y transmitido a otra para excitarla o inhibirla. Según este principio, el SNC es una red neuronal y su funcionamiento se debe a la interacción de conexiones excitatorias e inhibitorias. En este concepto funcional se han apoyado las diferentes hipótesis que intentan explicar los mecanismos celulares implicados en la epileptogénesis. En efecto, es muy probable que las alteraciones en la excitabilidad o en las conexiones sinápticas en estos circuitos neuronales sean las responsables de la descarga epiléptica. A continuación se describirán las principales características electrofisiológicas del proceso epiléptico.

Las características a que se hará referencia se han estudiado en dos modelos de epilepsia focal; uno consiste en la aplicación local de penicilina, y el otro, en la aplicación local de crema de alúmina.

En los dos modelos, lo fundamental es la aparición esporádica de grandes potenciales de acción que se registran en la superficie cortical en forma de espigas u ondas agudas. Como resultado del análisis del registro intracelular, en el sitio donde se aplicó el agente irritante, se han llegado a proponer varias hipótesis explicativas de la epileptogénesis. Una de estas hipótesis plantea que el foco epileptico está compuesto por células normales que disparan o generan potenciales de acción en forma normal, pero que, debido a un proceso sináptico anormal, se convierten en células con actividad anormal para otras neuronas, de ahí que se mantenga una actividad convulsiva autosostenida. En otras células del foco epileptico, aparecen cambios despolarizantes paroxísticos (despolarización paroxística:DP) que determinan que la célula descargue o genere trenes de potenciales de acción, lo cual hace suponer que dichas células son intrínsecamente anormales, es decir, son células epilepticas. La figura 1 muestra una típica DP, registrada intracelularmente en las neuronas del foco epileptico de un modelo, en el cual la epilepsia fue inducida por la aplicación local de penicilina. La figura 2 muestra otro ejemplo de DP, solo que en este caso la descarga se provocó por la aplicación de pentilentetrazol. Cabe hacer notar la descarga repetitiva de potenciales de acción que aparecen sobre la despolarización de la célula.

Se ha postulado que la DP de la célula condiciona la aparición de descargas repetitivas de potenciales de acción anormales, sin embargo, existe evidencia experimental que demuestra que la generación de las DP no es particularidad de las neuronas que se

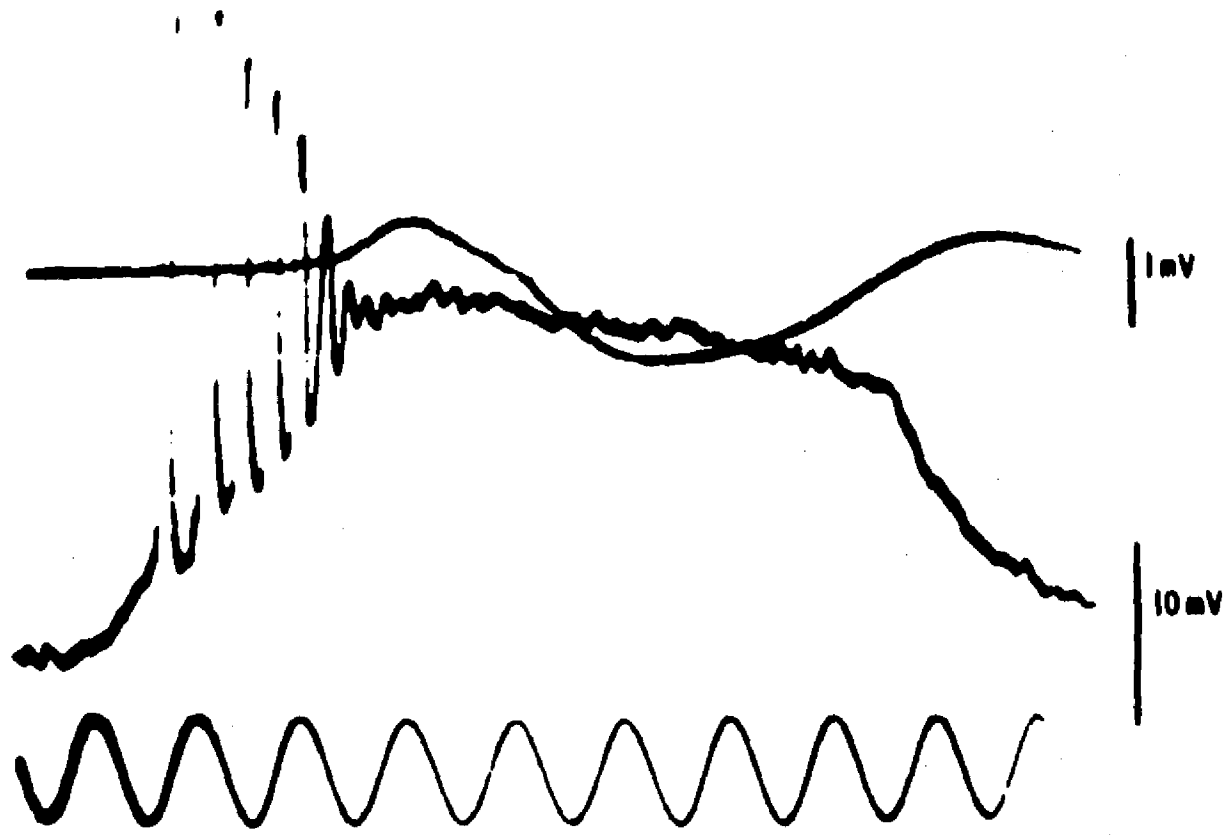


Fig. 1. Registro intracelular de una neurona en el foco epiléptico que muestra una despolarización paroxística (DP). El trazo superior corresponde al registro de la superficie cortical. Calibración: 100 Hz. Electrococtiograma: 1 mV; registro intracelular (microelectrodo): 10 mV. (Tomado de: Matsumoto, H. y Ajmone-Marsan, C. Exp.Neurol. 9:286-304, 1964).

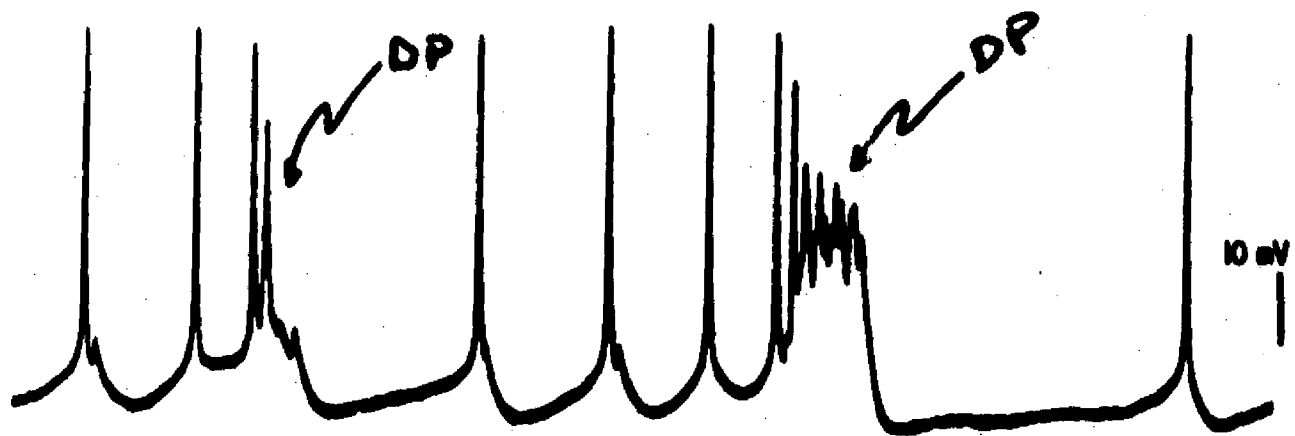


Fig. 2. Registro de la actividad neuronal intracelular de una neurona. Se obtuvo la actividad espontánea, hasta que se agregó pentilentetrazol (PTZ) al medio extracelular (registro in vitro). Después de una latencia de aproximadamente 60 segundos aparece la actividad paroxística (DP). (Solfs, et. al., datos no publicados).

encuentran en el foco epiléptico, ya que en él existen células capaces de generar DP y actividad espontánea normal (49).

Mediante el registro intracelular en células del foco epiléptico, se muestra que la DP tiene varias características electrofisiológicas. A continuación se enumeran tal como aparecen en una comunicación reciente de Schwartzkroin y Wyler (57):

a) la conductancia de la membrana (C_m) es muy alta durante la despolarización y, por tanto, la resistencia de la membrana (R_m) disminuye considerablemente. La figura 3, tomada de las investigaciones de Ayala y sus colaboradores (7) ilustra estos cambios en la excitabilidad de la célula durante una DP; b) la forma de onda que muestra la descarga repetitiva de potenciales de acción es relativamente constante, sin revelar relación con la intensidad del estímulo que la provoca; c) la latencia de aparición de la DP es muy variable (49); d) el umbral para la aparición del tren de potenciales de acción es variable y también adquiere un patrón cíclico si se estimula repetitivamente; e) para generar DP, es más efectiva la activación sináptica que la activación antidrómica de la célula; f) la despolarización directa mediante la inyección de corriente intracelular no provoca DP; asimismo, la inyección de corriente hiperpolarizante no tiene efecto sobre una DP provocada (48); g) hay un aumento en la aparición de prepotenciales rápidos (PPR) (58); h) la célula genera trenes de potenciales de acción a partir de la DP y continúa generando potenciales durante la fase de despolarización lenta en la que ocurre un aumento en la C_m ,

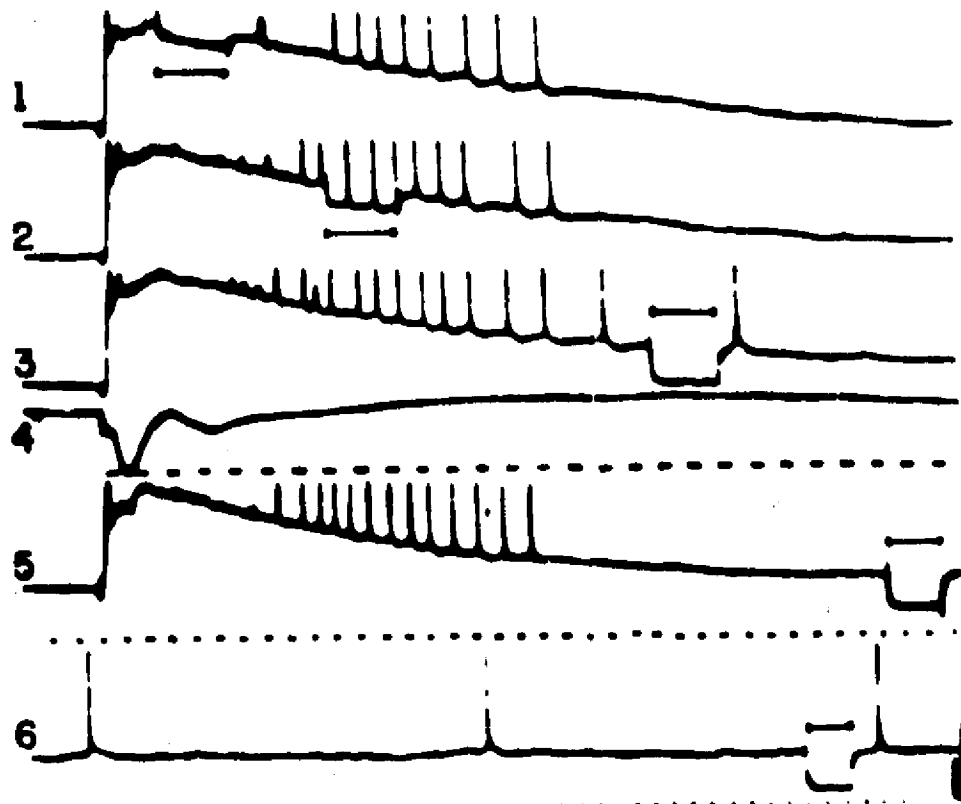


Fig. 3. Cambios en la excitabilidad de una célula durante una DP; 1,2,3,5, y 6 son registros intracelulares de una neurona en el foco epiléptico, y 4 el electrocorticograma (ECoG). Desde 1 a 5 se inyectan pulsos de corriente de una misma intensidad, para valorar la conductancia de la membrana en diferentes momentos de la DP. En 6 se muestra el efecto de la inyección del pulso cuando la célula no muestra DP. Nótese la disminución en el desplazamiento del potencial de membrana durante la DP. Registro con el microelectrodo: 10 mV. Para el ECoG, 1 mV; barra horizontal: 10 msec. (Tomado de: Ayala, G.F., Matsumoto, H. y Gumnit, R.J. 33:73-85, 1970).

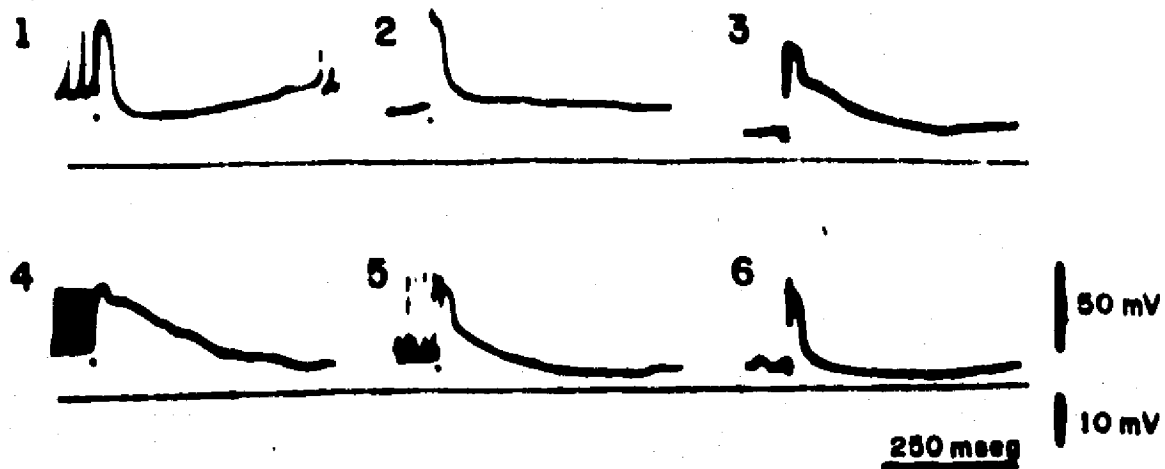


Fig. 4. Efectos de la inyección intracelular de iones cloro (Cl) sobre la hiperpolarización pos-DP. 1. Inmediatamente después de la penetración de la célula. El punto señala la estimulación del núcleo ventrolateral del tálamo (VL) que dispara una DP, seguida de una hiperpolarización. Debido a la inyección del Cl, la hiperpolarización se convierte en una progresiva despolarización (2,3) hasta llegar a invertirse y se genera el PPI invertido casi justo en el punto máximo de la DP (4). 5 y 6 muestran los cambios en el PPI durante la recuperación. (Tomado de: Prince, D.A. Exp. Neurol. 21:467-485, 1968).

como se ilustra en la figura 3; i) existe un aumento en la concentración de potasio extracelular (K^+), una disminución del calcio extracelular (Ca^{++}) y una simultánea despolarización de la célula glial durante la DP; j) por último, no se observan DP en aquellas neuronas en las que se han eliminado las dendritas, ni en terminales neuronales postsinápticas tratadas con penicilina.

Otra característica que muestra la célula del foco epiléptico es la aparición de una hiperpolarización después de la DP. Esta hiperpolarización puede durar hasta 2 segundos. En 1968, Prince (48) mostró que esta hiperpolarización se puede invertir por la administración de corriente hiperpolarizante o mediante la inyección de iones de Cl a través de la micropipeta de registro (figura 4). Estos resultados lo llevaron a postular que dicha hiperpolarización representa, en efecto, un potencial postsináptico inhibitorio (PPI) atribuido a una inhibición recurrente. En la periferia del foco epiléptico, estas hiperpolarizaciones son más acentuadas y muchas de las neuronas generan PPI no precedidos por una DP. Esta inhibición alrededor del foco sirve, al parecer, para limitar la propagación de la descarga.

Con base en las características mencionadas, se ha postulado que el origen de la DP es una sincronización de la actividad sináptica excitadora, es decir, pareciera que la DP fuera un potencial postsináptico excitatorio "gigante" (PPE). Sin embargo, evidencias experimentales recientes, provenientes de estudios in

vitro, en neuronas del hipocampo, señalan que la generación de la DP podría deberse a las propiedades intrínsecas de la célula, (51,56), en vez de considerar la suma de potenciales excitatorios como los causantes de la hiperexcitabilidad que se observa en la célula epiléptica. En estos estudios in vitro, mediante el registro intracelular, se observan DP similares a las registradas in vivo, ya sea en forma espontánea o provocadas ortodrómicamente. En estas DP también se observa la hiperpolarización que sigue a una DP; sin embargo, en algunas células se registran potenciales de acción que aparecen súbitamente sin estar precedidos por una despolarización. Asimismo, cuando se provocan DP mediante la inyección de pulsos de corriente hiperpolarizante, se obtienen modificaciones en la latencia de aparición y hasta se llega a bloquear por completo la DP; dichos cambios no se esperarían si la DP fuera un PPE "gigante". Como lo planteó Prince en 1978, (51) estos datos están de acuerdo con la hipótesis de que la DP es un PPE, y lo que sugiere dicho autor es que, en ciertas circunstancias, las DP registradas en el soma neuronal durante la descarga epiléptica pueden ser el resultado de la suma de eventos tipo "todo o nada". Cuando se bloquean los potenciales de acción, sin desenmascarar o descubrir un PPE, este mismo autor sugiere que el potencial generador para la descarga repetitiva puede estar en un sitio distante, probablemente en las dendritas distales (51,57).

Inducción del proceso epiléptico por la administración sistémica de sustancias convulsionantes

La administración de sustancias convulsionantes por vía sistémica es un procedimiento frecuentemente empleado en los estudios experimentales de epilepsia. Así, ha sido posible valorar los efectos de una serie de factores que afectan el umbral convulsivo en el sistema nervioso, como fármacos, lesiones cerebrales, predisposición genética, nutrición, etc. Particularmente, esta categoría de MEE ha sido útil para identificar algunos fenómenos neuronales en los que se basan las crisis convulsivas, así como para evaluar nuevos anticonvulsionantes, e incluso algunos compuestos convulsionantes han llegado a tener aplicación clínica en el diagnóstico de la epilepsia humana, al utilizarse en dosis subconvulsionantes para la activación de focos epilépticos poco evidentes.

El procedimiento que se sigue para producir las crisis convulsivas en estos modelos, consiste en administrar el agente convulsionante por vía intraperitoneal, intravenosa o subcutánea a una dosis convulsionante máxima o a una dosis efectiva media, según sea el objetivo del estudio. La administración de la sustancia convulsionante por vía sistémica permite su distribución homogénea en la red de capilares sanguíneos cerebrales, por lo que su acceso al parénquima cerebral queda condicionado por las características regionales de la permeabilidad capilar al agente químico en estudio. Esta disponibilidad, casi homogénea, del convulsionante en el sistema

nervioso parece ser de gran utilidad para los estudios de carácter neuroquímico.

Generalmente, los animales utilizados en tal tipo de estudios se encuentran sin anestesia, de manera que es posible analizar su conducta motora. La correlación entre la actividad motora y la actividad eléctrica neuronal se puede obtener si previamente a la administración del convulsionante se han implantado electrodos para registro bioeléctrico en las áreas de interés del SNC.

Cuando se evalúan otros parámetros fisiológicos, como la presión sanguínea arterial, presión parcial de gases en la sangre o pH plasmático, generalmente el estudio se realiza con el animal anestesiado o curarizado y mantenido vivo mediante respiración artificial.

Es importante tener en consideración que en esta categoría de MEE, las manifestaciones conductuales y electrofisiológicas que se presentan pueden variar aun cuando se empleen dosis similares en función de una serie de factores, a saber: especie animal estudiada, edad del animal experimental, estado nutricional del mismo, vía de administración utilizada, velocidad de inyección, etc. En el estudio de nuevas drogas anticonvulsionantes, es imprescindible el registro y el análisis de las manifestaciones electrofisiológicas y conductuales. Dentro de estas últimas, generalmente se considera la incidencia del efecto convulsivo, la duración de la latencia para el efecto convulsivo, la duración del periodo convulsivo, el tipo de crisis convulsivas, y la

duración y la frecuencia de las mismas. Una amplia variedad de compuestos químicos provoca actividad convulsiva en animales de laboratorio. A continuación se describen los MEE correspondientes a algunas de estas sustancias.

Pentilentetrazol (Metrazol)

El pentilentetrazol se ha empleado por vía subcutánea o intravenosa en diferentes dosis, en animales integros o con una lesión epiléptica previa. La tabla II muestra las dosis y vías de administración empleadas en diferentes animales de experimentación. El pentilentetrazol actúa en todo el SNC, pero es particularmente activo en regiones sensitivo-motoras de la corteza cerebral del mamífero. En 1960, Purpura y González-Monteagudo (52) se refirieron al pentilentetrazol como un convulsionante con sitio de acción en el nivel de la sinapsis y particularmente en sinapsis excitatorias, en contraste con otras sustancias, como la estricnina que actúa en el nivel de sinapsis inhibitorias. Sin embargo, a pesar de su amplio uso en el estudio de la epilepsia experimental, el mecanismo de acción del pentilentetrazol no está bien definido.

La administración de 40 mg/kg de peso por vía intraperitoneal a gatos produce, después de 30 a 60 segundos, sacudidas mioclónicas de las extremidades anteriores que después se propagan a las posteriores. En forma simultánea con estas sacudidas mioclónicas, el animal muestra midriasis, junto con movimientos del globo ocular, aumento de la frecuencia respiratoria, salivación y

T A B L A II

PENTILENTETRAZOL

ANIMAL	DOSIS CONVULSIVANTES (mg Kg ⁻¹) VIA DE ADMINISTRACION	PERIODO DE LATENCIA	REFERENCIA	OBSERVACIONES
RATON	85 S.C.	- -	SWINYARD Y COL. (1952)	CONVULSIONES EN EL 97%
RATON	50 - 70 I.P.	1 - 3 min.	STONE (1970)	
RATA	70 S.C.	-	SWINYARD Y COL. (1952)	CONVULSIONES EN EL 97%
RATA	40 - 70 I.P.	-	BLUM Y ZACKS (1958)	
COBAYO	60 - 70 I.P.	4 - 15 min.	WATTERSON (1939)	
CONEJO	15 - 25 I.V.	9 seg.	LONGO (1962)	
GATO	20 - 40 I.V.	- -	WANG Y SONNESCHEIN (1955)	
PERRO	25 - 30 I.V.	8 - 20 seg.	GURDJIAN Y COL. (1946)	ANIMAL BAJO MORFINA
MONO	8.5 - 29 I.V.	- -	CHUSID Y KOPELOFF (1969)	UMBRAL

finalmente crisis convulsiva generalizada clónico-tónica. Si el animal no presenta la crisis generalizada, es frecuente que dentro de los primeros 15 segundos después de la administración empiece a masticar o vocalizar. En experimentos recientes se ha observado que la administración i.p de 10 mg/kg-i de peso de pentilentetrazol fue suficiente para activar selectivamente la corteza cerebral de un animal que ya mostraba el estado conductual y la electrosensibilidad que caracterizan al fenómeno del Kindling. Esta dosis es 75% menor que la necesaria para inducir cambios electroencefalográficos en un animal normal, que tiene como umbral metrazólico la dosis de 40 mg/kg-i de peso (15). Es importante señalar que el pentilentetrazol es una de las sustancias que se utilizan sistemáticamente en la primera fase de la valoración de compuestos con posible efecto anticonvulsionante.

L-glutamato monosódico

El L-glutamato monosódico (GMS) puede producir convulsiones en animales de laboratorio. El efecto del GMS puede dividirse en dos periodos: preconvulsivo y convulsivo. En ratas adultas inyectadas intraperitonealmente con GMS se presenta un estado preconvulsivo caracterizado por somnolencia, hipersalivación, tremor espástico, actividad masticatoria y de acicalamiento compulsivo, medios giros, giros completos y carrera vigorosa. Estas conductas estereotipadas se presentan con un patrón dependiente de la dosis. La duración de los periodos preconvulsivo y convulsivo

tienden a disminuir al incrementar la dosis de GMS administrado. El periodo convulsivo se inicia de 30 a 120 minutos después de la inyección de GMS e incluye de 1 a 5 crisis clónico-tónicas, con una duración promedio de 13 a 50 segundos cada una.

Las ratas de 3 y 10 días de edad inyectadas con 4 gkg-1 de GMS presentan un patrón convulsivo de tipo clónico-tónico, con un marcado predominio de la fase tónica. En contraste, dosis similares de GMS inducen violentas crisis clónico-tónicas en ratas de 60 días de edad, mientras que en ratas de 180 o más días de edad predominan las crisis clónicas y eventualmente pueden observarse crisis clónico-tónicas, sobre todo al final del efecto.

Los registros electroencefalográficos de ratas adultas tratadas con 3.3 gkg-1 de GMS no muestran signos prodrómicos de las crisis, pero sí un patrón electroencefalográfico simultáneo a la manifestación de la crisis convulsivas, caracterizado por grupos de ondas de 3 a 5 cps, con una amplitud de 200-1000 microvoltios/cm y de 2 a 3 segundos o hasta 16 minutos de duración. Los periodos transcurridos entre las crisis están caracterizados por ondas lentas de 1 cps.

La DE_{50} para el efecto convulsivo en las ratas inyectadas i.p. con GMS es de 1.9 gkg-1, mientras que la DL_{50} es de 2.2 gkg-1, lo cual da un margen de seguridad mínimo. Los valores de estas dosis son aproximadamente la mitad de los de sus homólogas para el ratón. En esta especie, las características del periodo

preconvulsivo también son dependientes de las dosis e incluyen accesos de actividad masticatoria, periodos de carrera incontrolable y frecuentes giros completos, sin embargo, la actividad estereotipada de acicalamiento no se puede provocar con ninguna dosis. Las crisis convulsivas son de tipo clónico-tónico y se presentan en un total de tres a seis y con una duración promedio de cada crisis de 11 a 16 segundos, dependiendo de la dosis administrada.

Otros animales de laboratorio, como los hamsters y gerbils, también presentan crisis convulsivas después de la inyección intraperitoneal de GMS. Las convulsiones en estas especies son de tipo clónico-tónico, lo cual constituye un dato interesante si se considera que la inyección intracisternal de GMS en perros puede producir únicamente convulsiones de tipo tónico. Respecto a los mecanismos de producción de las crisis convulsivas, no hay información que los defina con precisión; sin embargo, las evidencias parecen indicar un probable desequilibrio entre los sistemas excitatorios e inhibitorios en el encéfalo, ya que el L-Glutamato es un neurotransmisor excitatorio central y el sustrato para la síntesis del ácido gamma aminobutírico, conocido neurotransmisor inhibitorio.

Durante las crisis provocadas por la administración i.p. de GMS, el fenómeno de barrera hematoencefálica para el L-glutamato en la rata se pierde, incluso para las proteínas plasmáticas. Aparentemente, el efecto convulsivo del GMS se incrementa en

ratas pretratadas con piridoxina(B) y no se previene al incrementarse los niveles de GABA cerebrales con hidrazina. Los niveles de norepinefrina y dopamina en los hemisferios cerebrales y el diencefalo se ven disminuidos considerablemente a partir de los 15 minutos de la inyección de 4 gKg-1 en ratas. Las concentraciones menores se encontraron durante el periodo convulsivo del efecto, con una tendencia a recuperar sus valores normales después de los 45 minutos de la inyección.

El estudio de los mecanismos neuronales en los que se basa la generación de crisis convulsivas y conductas estereotipadas en este modelo se torna interesante, debido a que: a) el l-glutamato es un neurotransmisor excitatorio que se encuentra naturalmente en el encéfalo; b) algunas alteraciones en el metabolismo de los aminoácidos en general y del l-glutamato en particular se han descrito en focos epilépticos, y c) el GMS se emplea frecuentemente como saborizante de alimentos naturales o enlatados, hecho que se ha visto asociado a una serie de signos y síntomas en el llamado síndrome del restaurant chino (26) o en algunas crisis de tremor convulsivo en la infancia.

Bicuculina

La inyección intravenosa de bicuculina produce crisis convulsivas generalizadas con una latencia de unos cuantos segundos; las crisis se inician súbitamente y se caracterizan por la presencia de actividad mioclónica constante. El mecanismo de acción de la bicuculina es por medio de la inhibición de la acción del GABA

sobre las neuronas de la corteza cerebral e hipocampo. Al parecer, la bicuculina compite con el GABA por el receptor postsináptico (12) y disminuye la despolarización de aferentes primarios, con el consecuente decremento en la transmisión aferente (inhibición postsináptica). La dosis habitual para el mono es de 0.1 a 0.4 mgkg⁻¹ por vía intravenosa; después de una latencia de 30 a 60 segundos se presentan sacudidas mioclónicas, en un principio aisladas, pero después se incrementan justo antes de la aparición de la crisis convulsiva generalizada. La DL para el ratón es de 2.5 mgkg⁻¹. Una dosis de 2.6 mgkg⁻¹ administrada a ratones por vía subcutánea produjo crisis convulsiva generalizada en un 72% de los animales, de los cuales el 55.5% murieron (2).

La bicuculina es una de las sustancias convulsionantes que más se emplean para inducir crisis convulsivas generalizadas, debido tanto a su poderoso efecto convulsionante a bajas dosis, como a su fácil administración. Además, dado que su mecanismo de acción parece estar bien definido, se utiliza ampliamente cuando se quieren manipular farmacológicamente las terminales GABAérgicas en el SNC.

Estricnina

La estricnina es una de las sustancias que más se utilizan para inducir alteraciones paroxísticas, ya sea administrada por vía sistémica o aplicada directamente en la corteza cerebral. Uno de

los aspectos que resulta de interés en el uso de la estriquina como agente convulsionante es su mecanismo de acción. Se considera a la estriquina como un potente y selectivo inhibidor de la glicina, que es uno de los principales neurotransmisores con propiedades inhibitorias dentro del SNC.

La administración i.v. de estriquina produce inicialmente un estado preconvulsivo que se caracteriza por un patrón electroencefalográfico, compuesto por actividad rápida y bajo voltaje que evoluciona a un estado convulsivo, con la consecuente aparición de espigas interictales (espigas estriquinicas) frecuentemente de aparición variable. Durante este estado, la médula espinal muestra una acentuada actividad eléctrica compuesta por ritmos rápidos y de alto voltaje, con ondas entremezcladas. Resulta de interés mencionar que las crisis convulsivas inducidas por la estriquina cuando ésta se administra a un animal íntegro y libre de movimiento son exclusivamente tónicas, con extensión de las extremidades. Estas crisis tónicas se desencadenan fácilmente con cualquier estímulo sensorial. La dosis de 2 mg/kg-1 administrada por vía intraperitoneal a ratones produce crisis convulsivas generalizadas en 58.3% de los animales, de los cuales el mismo porcentaje muere debido a las convulsiones (2).

Solventes orgánicos

Existe poca información acerca del empleo de los solventes orgánicos como inductores de la actividad convulsiva

experimental. La información existente respecto a su uso se relaciona con la adicción que produce la inhalación de dichos solventes. Este hecho constituye un serio problema de salud para algunos países, como México. Una de las publicaciones acerca de los efectos del benceno y del tolueno sobre la actividad eléctrica cerebral es el trabajo realizado por Contreras y sus colaboradores, (10). Estos autores administraron los dos compuestos mencionados a animales libres de movimientos, con electrodos implantados a permanencia y por medio de una cánula colocada directamente en la tráquea de cada animal. La dosis administrada se calculó con base en la cantidad de solvente aplicado (gramos del solvente por densidad) dividida entre el volumen respiratorio minuto de gato (en promedio 1500 ml min⁻¹), más la cantidad de aire (600 ml min⁻¹) proveniente de la bomba de respiración que se utilizó para movilizar los gases de solvente previamente evaporado. Dichos autores encontraron cambios cualitativos conductuales, así como electroencefalográficos entre la primera inhalación y las subsecuentes. Los cambios conductuales en las primeras inhalaciones consistieron en inquietud, polipnea, salivación, midriasis, lagrimeo y olfateo. Todos estos cambios coincidieron con la aparición de actividad eléctrica de 20 a 25 Hz en forma de husos (spindles) en la amígdala del lóbulo temporal, en tanto que la formación reticular mostró actividad de alta frecuencia y de baja intensidad. Estas alteraciones se acentuaron conforme se repitieron las inhalaciones. Con una concentración de 102.3 mg/l, tales alteraciones provocaron modificaciones en el patrón eléctrico en

varias estructuras, pero lo más significativo fue la aparición en la corteza del cíngulo de una descarga de 3 Hz y con morfología de espiga onda.

Rojo de rutenio

La mezcla comercial contiene diversas poliaminas de rutenio, entre las cuales predomina el rojo de rutenio (RR) u oxiclórico de rutenio amoniacal, que presenta un pico de absorción espectrofotométrica de 533 m. El rojo de rutenio lo utilizaron inicialmente Tapia y sus colaboradores en 1976, (63) para provocar actividad convulsiva mediante la administración intracisternal de 1.7 a 8.8 microgramos a ratones o por medio de la inyección intraventricular de 8 microgramos de RR a gatos adultos. Después de 8 a 23 minutos de la administración intracisternal de RR a ratones, se presentan convulsiones tónico-clónica de las extremidades anteriores y posteriores, con extensión de la cabeza, rigidez de la cola y pérdida del reflejo de enderezamiento, mientras que la inyección intraventricular a gatos produce una actividad típica de posdescarga en el EEG, que se inicia después de 20 minutos de la administración del RR y se presenta cada 15 a 30 minutos durante varias horas para después desarrollar crisis tipo gran mal. La inyección de 100 microgramos en el hipocampo produce efectos electroencefalográficos similares a los inducidos por vía intraventricular.

Otros experimentos han demostrado que diferentes estructuras cerebrales tienen una susceptibilidad variable al RR, ya que

después de 14 a 26 minutos de la administración intraventricular de 35 microgramos de RR a gatos, en varias regiones del encéfalo se registra actividad eléctrica tipo epileptiforme, con diferentes latencias de aparición. Esta actividad se caracteriza por trenes de ondas agudas de 16 a 156 segundos de duración y con periodos interictales de 25 a 60 segundos. La actividad ictal se hace evidente en el orden siguiente: hipotálamo ventromedial, hipocampo, corteza cerebral y formación reticular mesencefálica. El hecho de que el hipocampo y el hipotálamo sean las áreas más afectadas sugiere que la participación cortical en la generación de este tipo de crisis convulsivas es secundaria a una alteración de la función de estructuras subcorticales.

La inyección intraperitoneal de RR a ratas también produce actividad convulsiva de tipo tónico-clónico, como lo señaló Arauz-Contreras y (3). En esta especie animal, el RR produce una secuencia de cambios motores que se presentan en el siguiente orden: hipotonía de extremidades posteriores, parálisis flácida de las extremidades posteriores e hipotonía de las extremidades anteriores, parálisis flácida de las extremidades anteriores y pérdida del reflejo de enderezamiento, recuperación del reflejo de enderezamiento, actividad motora atípica, convulsiones tónico-clónicas, remisión o muerte. La actividad motora atípica incluye frecuentemente movimientos de acicalamiento, accesos de actividad masticatoria, crisis de actividad clónica de las extremidades anteriores y periodos de entrecruzamiento de las extremidades posteriores. Dicha actividad se presenta con 5 a 12.5 mgkg⁻¹ de RR. En contraste, con 15 a 30 mgkg⁻¹ de peso, la actividad motora

atípica incluye movimientos flexores y extensores del cuello y laterales de la cabeza, además de fasciculaciones de los músculos de la cabeza y del cuello. Con 5 mgkg-1 de peso se pueden inducir algunas alteraciones vegetativas, como incontinencia del esfínter urinario y numerosas crisis de erección peneana. La duración de las latencias para cada fase del efecto del RR sobre la actividad motora de la rata se resume en la tabla III. La actividad convulsiva se presenta con una latencia de 90 a 148 minutos, de acuerdo con la dosis empleada, y consiste en tres o hasta seis crisis convulsivas con una duración de 18 a 25 segundos. Las crisis tónico-clónicas en la rata se caracterizan por accesos de actividad clónica que se inicia en las extremidades anteriores y se propaga rápidamente a las posteriores, para concluir con hiperextensión de las mismas y del cuello, además de rigidez de cola.

Estos fenómenos motores se correlacionan con la aparición en el EEG de trenes de espigas de gran amplitud, seguidos frecuentemente por periodos de silencio cortical. Para inducir los efectos de hipotonía muscular, la DE es de 12.16 ± 0.42 mgkg-1, para la parálisis flácida es de 13.71 ± 0.19 mgkg-1 y para la actividad convulsiva es de 13.65 ± 2.31 mgkg-1.

El ratón es más sensible que la rata para presentar efecto convulsivo mediante la administración intraperitoneal de RR, ya que con 5 mgkg-1, el 63% de los ratones convulsionan y con la misma dosis no se puede provocar efecto convulsivo en la rata.

T A B L A III
DURACION DE LA LATENCIA DE LAS FASES DEL EFECTO DEL ROJO DE RUTENIO i. p. EN LA RATA

		DOSIS DE ROJO DE RUTENIO EN mg.Kg ⁻¹ *					
		5 (1.8)	10 (2.7)	12.5 (3.3)	15 (4.0)	20 (5.4)	30 (8.1)
A	SECUENCIA TIPICA						
	QUIETUD	11.3 ± 1.4	18.5 ± 2.9	13.2 ± 1.2	3.7 ± 0.5	3.4 ± 0.4	2.0 ± 0.4
	HIPOTONIA MUSCULAR PROGRESIVA	—	—	18.5 ± 2.9	6.7 ± 0.6	6.2 ± 0.6	4.1 ± 0.4
	PARALISIS FLACCIDA GENERALIZADA	—	—	—	17.9 ± 1.5	13.5 ± 1.4	9.1 ± 0.6
	ACTIVIDAD MOTORA ATIPICA	22.1 ± 4.3	51.7 ± 7.6	80.1 ± 8.5	37.4 ± 2.9	68.6 ± 5.3	91.0 ± 21.3
B	ACTIVIDAD CONVULSIVA TONICO-CLONICA	—	—	148.6 ± 43.2	99.2 ± 5.8	129.3 ± 7.8	90.6 ± 9.8
C	REMISION O MUERTE	(0) ^a	(14) ^b	(36) ^b	(54) ^c 256.5 ± 91.2	(84) ^c 308.9 ± 23.4	(100) ^c 162.1 ± 11.3

Los valores expresados son $\bar{X} \pm E.E.$ y las unidades empleadas son minutos, a menos que se indique otra cosa.

* Dosis correspondiente a la mezcla comercial de RR. El equivalente de RR puro administrado se indica en mg.Kg⁻¹ entre paréntesis, tomando en consideración una pureza estimada del producto comercial de 23.3%.

— No se presentó el efecto correspondiente.

a Porcentaje de muertes entre paréntesis. La remisión del efecto fue después de 8 horas.

b Porcentaje de muertes entre paréntesis. La muerte ocurrió después de 8 horas, el resto tuvo remisión del efecto.

c Porcentaje de muertes entre paréntesis, el resto tuvo remisión del efecto. Se indica el valor $\bar{X} \pm E.E.$ del tiempo de muerte.

A = PERIODO PRECONVULSIVO **B** = PERIODO CONVULSIVO **C** = PERIODO POSTCONVULSIVO

(TOMADO DE ARAUZ-CONTRERAS, 1973 (5).)

además, con 12.5 mgkg-1, el 100% de los ratones presenta parálisis flácida y no se induce este efecto con la misma dosis en la rata. Los efectos motores muestran una secuencia similar en ambas especies, pero la latencia para el efecto convulsivo es mayor en el ratón y el número de crisis varía de 1 a 6, con una duración que fluctúa entre 28 y 50 segundos, según la dosis empleada.

Debido al efecto inhibitor que tiene el RR sobre el transporte de calcio en las membranas presinápticas, se ha postulado que produce su efecto convulsivo al bloquear la liberación del neurotransmisor en las sinapsis centrales. En fracciones sinaptosomales de cerebro del ratón se ha observado que el RR inhibe la liberación de GABA (44). Además, se ha visto que la liberación de GABA se encuentra marcadamente disminuida en sinaptosomas obtenidos de cerebros de ratones a los cuales se les ha administrado el RR por vía intracisternal (44). Este dato sugiere que el efecto convulsivo del RR es por inhibición de sinapsis GABAérgicas. También se ha observado que la administración de cloruro de calcio previene el efecto convulsivo del RR (63) y la administración intravascular de andrógenos inhibe las crisis convulsivas inducidas por el RR.

4-Aminopiridina

La 4-aminopiridina (4-AP) es un estimulante del SNC recientemente empleado para producir convulsiones en roedores. Se sabe que la 4-AP es capaz de incrementar la liberación de neurotransmisores

in vivo (38) e in vitro, tanto en sinapsis excitadoras como inhibitoras. Se ha postulado que su acción sináptica puede deberse a un bloqueo de los canales de potasio o a un efecto directo sobre la cinética de los canales de calcio sensibles al voltaje. Independientemente del mecanismo, la acción sináptica de la 4-AP requiere la presencia de calcio en el espacio extraneuronal.

La inyección intraperitoneal de 5 mgkg⁻¹ de 4-AP en ratones de 15 días de edad produce crisis convulsivas de tipos clónico y tónico (47). Las convulsiones clónicas se presentan después de 5 a 7 minutos en más del 90% de los animales, y las tónicas después de 17 a 24 minutos con una ocurrencia de 92%. Generalmente, el 80% de los animales tratados de esta manera mueren durante las crisis tónicas. En la rata adulta también puede producirse actividad convulsiva mediante la inyección intraperitoneal de la 4-AP. Con dosis de 3 mgkg⁻¹ o menores, sólo puede inducirse después de 13 a 29 minutos la aparición de ligeras sacudidas de las orejas y vibrisas y ocasionalmente de la cabeza. Con dosis mayores de 4 mgkg⁻¹, las manifestaciones descritas también se presentan, pero se continúan con un verdadero temblor cefálico, el cual se generaliza después de 5 a 8 minutos de la administración y tiene una duración que fluctúa entre 28 minutos y más de dos horas según la dosis utilizada. Con 6 mgkg⁻¹, este efecto se presenta en el 100% de los animales. Dosis de 4 mgkg⁻¹ de 4-AP inducen actividad convulsiva en más del 30% de las ratas y el 100% se obtiene con dosis de 7.5 mgkg⁻¹ o mayores.

El patrón convulsivo puede considerarse como de tipo tónico-clónico y se inicia con una actividad clónica generalizada, acompañada de saltos, la cual es seguida de convulsión tónica con hiperextensión de las extremidades y del cuello. Los fenómenos intercríticos son variables de acuerdo con la dosis y pueden incluir accesos aislados de actividad clónica, seguidos de acicalamiento intenso y sacudidas cefálicas o estados de temblor generalizado con estupor. La latencia para que se presente la primera crisis convulsiva es de 11 a 36 minutos. Durante el periodo convulsivo se presentan tres o cuatro crisis convulsivas con 40-129 segundos de duración cada una. Este periodo dura entre 11 y 23 minutos, y después el 28% de los animales muere durante una convulsión tónica con la dosis de 5 mgkg⁻¹ y el 100% con 7.5 mgkg⁻¹.

Durante la manifestación del fenómeno convulsivo, las ratas presentan hipersalivación, lagrimeo constante y abundante secreción nasal. Las crisis convulsivas provocadas por 4-AP en el ratón pueden exacerbarse si el convulsionante se administra después de que el animal ha generado una dependencia a la morfina (2), o reducirse si la 4-AP se administra después de un tratamiento con taurina (47). Apparently, las crisis convulsivas inducidas por 4-AP pueden deberse a un incremento en la liberación generalizada de una amplia variedad de sustancias neurotransmisoras en el sistema nervioso.

Inducción del proceso epiléptico por aplicación tópica de sustancias irritantes

La aplicación de sustancias irritantes sobre la corteza cerebral tiene la ventaja, con respecto a otros modelos, de que el proceso epiléptico se induce en una zona restringida del tejido nervioso. Generalmente, la aplicación del inductor produce actividad paroxística en forma aguda y el grado de severidad depende de la cantidad de sustancia que se aplique, lo que de alguna manera es de gran utilidad, pues lo que se pretende es analizar finamente la actividad neuronal mediante el empleo de técnicas electrofisiológicas, como el registro a través de microelectodos. Frecuentemente se utilizan animales en preparación aguda, es decir animales anestesiados e inmovilizados que requieren cuidados especiales, como la constante vigilancia de la presión arterial y la temperatura. Un aspecto muy importante es que el animal esté libre de sensación dolorosa. Una desventaja que tienen los MEE en los cuales se emplea un agente irritante en forma aguda, es la limitación del análisis de la conducta del animal debido a las restricciones experimentales. Otro tipo de preparación experimental es la crónica, probablemente la que ofrece mayores semejanzas con la epilepsia humana (como los MEE inducidos con crema de alúmina o cobalto). La ventaja de este tipo de MEE consiste en poder realizar estudios multidisciplinarios en animales con movimiento libre y con crisis convulsivas "espontáneamente" recurrentes.

Penicilina

La aplicación local de penicilina es quizá el modelo que más se emplea para inducir el proceso epiléptico agudo. En 1945, Walker y Johnson (67) fueron los primeros en comunicar los efectos convulsionantes de la penicilina. A partir de entonces, el uso de esta sustancia para producir cambios en la excitabilidad neuronal se convirtió en un importante método para el estudio de la epilepsia experimental. El llamado foco penicilínico ha permitido analizar la actividad eléctrica mediante el registro extracelular e intracelular. La manera de producir un foco penicilínico consiste en aplicar directamente la penicilina sobre la corteza cerebral. Una dosis de 1000 a 5000 unidades (1.7 a 8.5 mM) produce la descarga paroxística local, la cual aparece con una latencia de 30 a 60 segundos después de la aplicación, y se mantiene por un lapso de 10 a 24 horas. Posteriormente, la aparición de paroxismos es menos frecuente y termina por desaparecer (50). Por lo regular, en este modelo el animal de experimentación suele estar inmovilizado (curarizado) y mantenido con respiración artificial. Cabe hacer énfasis en los cuidados que se deben tener para mantener la preparación en buen estado. Particular atención debe tenerse en el control de la temperatura, la presión arterial y la ventilación pulmonar.

En cuanto al mecanismo de acción de la penicilina, se ha postulado que antagoniza la acción inhibitoria del GABA; sin embargo, no son bien conocidos los mecanismos celulares causantes

del efecto epileptogénico de la penicilina. Para una descripción de las alteraciones fisiológicas producidas por la penicilina, consúltese la sección Fisiología del foco epiléptico.

Crema de Alúmina

La crema de alúmina (CA) se ha empleado para producir crisis convulsivas "espontáneamente" recurrentes en diversas especies animales. El procedimiento de inducción del fenómeno consiste en colocar la CA sobre una región circunscrita de la corteza cerebral, en el espacio subaracnoideo, o más frecuentemente mediante la inyección intracortical con aguja del número 27 o a través de cánulas guiadas estereotáxicamente.

En 1942, Kopeloff y sus colaboradores (28) describieron originalmente dicho MEE y en su preparación utilizaron un precipitado de la CA, obtenido mediante el tratamiento del alumbre de amonio con hidróxido de amonio. Se ha visto que el óxido de aluminio en polvo, ya sea simplemente lavado o esterilizado o como parte del gel de hidróxido de aluminio, también es eficaz para desarrollar el modelo. Las preparaciones comerciales de dicho gel, previamente esterilizadas, son las que más se emplean como agentes de inducción. El éxito en la inducción de este tipo de MEE es mayor cuando la aplicación de la CA se hace en la corteza sensitivo motora, aun cuando se han podido producir crisis convulsivas por su aplicación en otras áreas corticales, al igual que en zonas subcorticales, como el tálamo, putamen (29) y sustancia nigra entre otras.

El patrón clínico de las crisis convulsivas varía según la región del SNC en que se haya colocado la CA, y la especie y edad el animal. Aparentemente, los animales más susceptibles a desarrollar el fenómeno epiléptico en este tipo de modelo son los primates (30), sin embargo, se ha podido provocarlo en gatos (64) y parece ser más difícil obtenerlo en roedores.

En el mono Macaca mulata se pueden observar crisis convulsivas espontáneas después de 35 a 60 días de la aplicación intracortical de la CA, aunque en algunos casos pueden presentarse desde la tercera semana. El patrón de cambios en la actividad eléctrica que puede registrarse en las neuronas del foco epiléptico ha sido descrito en la sección denominada Fisiología del foco epiléptico.

Los monos a los que se ha colocado la CA en las regiones de la corteza sensitivo-motora que contienen la representación cortical de la extremidad anterior y del hemirrostro contralateral (30) presentan un patrón convulsivo típico, que incluye crisis que se inician por contracciones bruscas de los músculos contralaterales de la cara o la extremidad. Esta actividad muscular se propaga al lado ipsilateral y luego se generaliza, para concluir con una fase tónica que puede durar segundos o minutos y presentar sacudidas mioclónicas. En algunos casos, dichas sacudidas se presentan casi en forma continua. Después de cada crisis sobreviene un periodo de sopor y disminución en la respuesta a los estímulos externos.

Toda la fenomenología descrita para esta especie puede observarse, después de haberse instalado, por periodos tan largos como siete años. Debido a esta cronicidad en la manifestación de los signos epilépticos, el MEE por CA es considerado uno de los más útiles en el estudio de las modificaciones del SNC a consecuencia de la epilepsia. En gatos, la inyección de CA en la circunvolución sigmoidea anterior también induce crisis convulsivas de tipo focal, espontáneas y recurrentes que se correlacionan electroencefalográficamente con descargas paroxísticas circunscritas a la corteza sensitivo-motora, las cuales tienden a presentar remisión después de dos meses de la administración de la CA (64).

En contraste con este patrón convulsivo, al inyectar CA en los núcleos intralaminares talámicos y en la formación reticular de gatos de menos de 30 días de edad, después de 18 horas de la aplicación se presentan crisis de "ausencia", con un patrón electroencefalográfico de espiga-onda de 3 cps. En gatos adultos, se ha demostrado que el espesor y la cantidad de células al rededor de el área lesionada disminuyen particularmente en los periodos convulsivo y de remisión. Sobre todo, se puede observar lesión neuronal en el foco epiléptico durante el periodo convulsivo, que consiste en una significativa disminución del número de neuronas inhibitorias y una pérdida de terminales sinápticas que contienen GABA (14,55). Estos hechos parecen apoyar la explicación de que la actividad paroxística en la corteza de los animales tratados con CA se debe a una significativa

alteración en los mecanismos inhibitorios corticales.

Cobalto

Kopeloff en 1960 (31) fue el primero en comunicar los efectos de la aplicación local de cobalto en la corteza cerebral. La aplicación de 30 mg de polvo de cobalto en la corteza motora de la rata produce movimientos clónicos del hemicuerpo contralateral al sitio donde se aplicó. Estos movimientos clónicos duran de 2 a 3 días, al cabo de los cuales aparecen las crisis generalizadas. El registro electroencefalográfico muestra ondas agudas en el sitio de la implantación del cobalto. Estas ondas agudas duran de 10 a 20 días y desaparecen en 4 o 6 semanas. También se obtiene un buen patrón de actividad epiléptica mediante la aplicación local de cobalto en estructuras límbicas. La administración local de cobalto en la amígdala del lóbulo temporal produce un foco epiléptico cuya actividad dura alrededor de 30 días. Si el cobalto se aplica en el hipocampo, la duración es aproximadamente 2 meses. La actividad epiléptica aparece 48 horas después de la aplicación del cobalto y se caracteriza por la generación de actividad ictal en forma de ondas agudas (espigas epilépticas) que en un momento dado determinan la aparición de crisis generalizadas. El animal muestra inquietud, aumento en la actividad locomotora, no responde a estímulos del ambiente y muestra una severa depresión postictal. Al parecer, estas crisis se presentan de manera espontánea. El cobalto produce severas alteraciones morfológicas en el tejido nervioso. En el sitio

donde se aplicó se observa una acentuada destrucción celular. Esta destrucción es progresiva y al parecer afecta a todos los elementos tisulares; sin embargo no se conoce una alteración tisular específica que pudiera explicar la producción de actividad paroxística. El uso de cobalto es uno de los modelos ideales cuando se requiere tener una preparación semicrónica. Esto permite utilizar estrategias experimentales en las que el factor de cronicidad es importante, por ejemplo, en estudios de carácter neuroquímico o en estudios en los que se pretende observar cambios tisulares o electrofisiológicos a largo plazo, como es el caso del llamado foco en espejo.

Picrotoxina

La picrotoxina es un estimulante del SNC y pertenece al grupo de los analépticos. Es un convulsionante típico y su acción farmacológica es parecida a la del pentilentetrazol. Se postula que la picrotoxina actúa bloqueando la acción inhibitoria del ácido gamma aminobutírico (GABA), específicamente al competir por su receptor postsináptico. La administración de una dosis convulsionante de picrotoxina por vía intravenosa produce, después de una latencia de 1 a 3 minutos, la aparición en el EEG de ondas agudas que aumentan gradualmente de tamaño y de frecuencia, hasta que aparece una severa descarga tónico-clónica. En el ratón, la administración de 5.9 mg/kg-1 de peso por vía subcutánea produce un 50% de crisis convulsivas generalizadas. Una dosis subconvulsiva produce un aumento en la fotosensibilidad

del babuino senegalés, conocido como papio-papio. La importancia de esta sustancia para emplearla como modelo de epilepsia experimental radica en su conocido mecanismo de acción sobre el GABA. Debe considerarse que la picrotoxina tiene 2 características importantes: a) su potente acción convulsionante, y b) su mecanismo de acción conocido. Estas características hacen a la picrotoxina bastante útil para realizar estudios en los que se trata de discernir la forma de participación del GABA en los diferentes procesos inhibitorios en los que interviene dicho estimulante.

Acido kainico

Se considera al Acido kainico (AK) como un potente estimulante del SNC y se postula que ejerce un mecanismo de acción como un agonista del glutamato. Se obtiene de una semilla dulce conocida como Digenea simplex. La administración sistémica de AK produce crisis convulsivas generalizadas que se caracterizan por la presencia de sacudidas de todo el cuerpo previas a las crisis. Estas sacudidas se conocen como sacudidas de perro mojado (wet dog-shake) y son similares a las que se presentan en el síndrome de abstinencia a opiáceos. Las sacudidas se presentan de 30 a 40 minutos después de la administración de AK, con una frecuencia de 7 a 8 sacudidas por minuto. La dosis habitual que se utiliza es de 9 a 12 mg/kg-1 de peso. Con esta dosis, después de un periodo de hipoactividad, el animal muestra crisis convulsivas generalizadas, con un patrón similar al que se presenta mediante la estimulación subliminal repetitiva (kindling) de la amígdala

del lóbulo temporal o de alguna otra estructura del sistema límbico.

El AK es también muy efectivo para producir crisis convulsivas cuando se administra localmente por microinyección en alguna estructura del SNC. Administrado de esta forma, se observa un potente efecto convulsionante que depende de la dosis; por ejemplo, la microinyección de 1 mg en 1 microlitro a través de una cánula implantada estereotáxicamente en el hipocampo produce la aparición de espigas interictales en el EEG, que aumentan de amplitud al cabo de 45 minutos, cuando aparecen crisis focales. Estas crisis se presentan cada 10 y 15 minutos durante dos o tres días, al cabo de los cuales todos estos cambios electroencefalográficos y conductuales desaparecen y el animal parece normal. Mediante la administración de 4 mg en 2 microlitros, los cambios electroencefalográficos y conductuales son más severos; sin embargo, después de tres días el animal parece estar normal. Con dosis de 12 mg en 6 microlitros, los animales muestran crisis focales secundariamente generalizadas, que con el tiempo se hacen más frecuentes y severas, hasta que los animales muestran un estado de gran mal -status epilepticus- que los lleva a la muerte (62). Estos datos son muy ilustrativos de la potencia convulsionante del AK. Es importante señalar que la sustancia puede inducir un severo estado de gran mal.

Producción del proceso epiléptico mediante la estimulación eléctrica

La producción de la actividad convulsiva mediante la aplicación de estímulos eléctricos es quizá uno de los métodos más antiguos dentro del estudio de las epilepsias. La naturaleza del estímulo -corriente eléctrica- permite establecer mejores estrategias de experimentación, es decir, el estímulo se puede controlar de tal forma que se apliquen intensidades de estimulación que siempre desencadenen crisis convulsivas (estímulos supraumbrales) o intensidades que permiten provocar cambios en el tejido nervioso de manera gradual. La estimulación eléctrica ofrece ciertas ventajas con respecto a otros MEE, una de las cuales es que no se introducen sustancias extrañas al organismo; además, puede emplearse en cualquier preparación experimental, ya sea en animales anestesiados e inmovilizados o íntegros y libres de movimiento.

A continuación se describen dos MEE en los que el empleo del estímulo eléctrico constituye un aspecto fundamental para inducir la actividad epiléptica.

Electrochoque

Es bien sabido que la aplicación de un estímulo eléctrico directamente al cerebro produce crisis convulsivas. En un principio, este hecho determinó el uso del electrochoque como una medida terapéutica para algunos padecimientos psiquiátricos. También la aplicación del electrochoque se ha convertido en una

herramienta muy útil en el estudio de la epilepsia experimental. El procedimiento consiste en aplicar un estímulo eléctrico de intensidad suficiente para desencadenar una crisis convulsiva generalizada, denominado estímulo umbral (EU), o una vez conocido el umbral, de un estímulo por arriba de este umbral, que se denomina estímulo supraumbral (61).

El estímulo eléctrico se aplica a través de dos electrodos colocados en la cabeza del animal (electrodos corneales) o bien a través de electrodos implantados directamente en la corteza cerebral o en alguna estructura subcortical. El estímulo consiste en un tren de pulsos rectangulares de 0.2 mseg de duración y con una frecuencia de 60 a 100 pps. Existen varios dispositivos electrónicos diseñados específicamente para producir la estimulación. Las manifestaciones clínicas de las crisis convulsivas producidas por electrochoque dependen directamente de la intensidad del estímulo. Una vez administrada la intensidad umbral (umbral convulsivo), el animal pasa por un breve período de inmovilidad, para después presentar la fase tónica que se caracteriza por flexión de las extremidades con movimientos rítmicos. Esta fase tónica es seguida de la fase clónica, en la que se presenta extensión de las extremidades con violentos movimientos de gran amplitud. De esta forma se puede establecer un vínculo entre la flexión-extensión (F/E) cuantificable simplemente al tomar el tiempo de cada una de estas etapas. Otro parámetro que se utiliza para valorar la severidad de una crisis inducida por electrochoque es el tiempo que tarda el animal en recuperarse (TR). En la rata, por ejemplo, el TR después de un

electrochoque con 60 mA es de 12.5 minutos, mientras que con una intensidad de 37.5 mA, el TR es de 6.8 minutos. Este hecho indica la relación entre la intensidad del estímulo y el grado de las crisis: conforme la intensidad es mayor, más severa es la convulsión.

Kindling (estimulación eléctrica repetida de baja intensidad)

La estimulación eléctrica de una zona restringida del SNC ha sido el método experimental más empleado por los epileptólogos. Se basa en el hecho de que el tejido nervioso es fácilmente excitable por el estímulo eléctrico, hecho conocido desde los experimentos de Fritsch y Hitzig en 1870 (18) y después por las investigaciones de Rosenblueth y Cannon en 1942 (56). Estos últimos autores describieron el patrón de actividad eléctrica, que se registra con un par de electrodos colocados directamente sobre la corteza cerebral, después de la aplicación de un estímulo eléctrico. Este patrón de actividad se caracteriza por un periodo de actividad rítmica, oscilatoria, de bajo voltaje y con una frecuencia de 15 a 30 cps., conocida como fase tónica, la cual se transforma en una actividad de mayor voltaje y de menor frecuencia, que se conoce como la fase clónica. Este patrón de actividad se denomina posdescarga (PD). Al parecer, el método de estimulación con pulsos de corriente eléctrica ha sido el ideal para inducir cambios agudos -fases ictales- en el tejido nervioso. El tejido donde se aplica el estímulo eléctrico no

muestra una ostensible patología y, de no ser por el período ictal, el tejido funciona de manera normal; sin embargo, recientemente se ha descrito un cambio permanente en la excitabilidad neuronal, debido a la estimulación eléctrica repetida (21).

El cambio en la excitabilidad observada por Goddard (21) consiste en el aumento progresivo de la PD (fig.5), aparición espontánea de espigas interictales (fig.6) y cambios conductuales que culminan con la aparición de crisis convulsivas, en ocasiones también de aparición espontánea (fig.7). Asimismo, este cambio en la excitabilidad se concluye del hecho de que el sitio estimulado muestra una disminución en el umbral de descarga. Lo fundamental de este fenómeno es su aparición gradual y su cronicidad una vez establecido.

Goddard denominó a dicho fenómeno Kindling, término que se utilizará a lo largo de esta obra y que denota algo que se activa y crece gradualmente. El kindling se presenta en todos los mamíferos y en algunos anfibios, como la rana. Al parecer, es condición necesaria que el animal de experimentación utilizado para desarrollar el kindling sea adulto. Con frecuencia se emplea la corriente eléctrica en forma de trenes de pulsos con una frecuencia de 60 a 100 pulsos por segundo. El tren está compuesto por pulsos de 1 msec de duración, bipolares o monopolares de forma rectangular. Es condición necesaria que la frecuencia de estimulación esté en el rango mencionado, ya que frecuencias menores no desencadenan el proceso. Al parecer, el intervalo

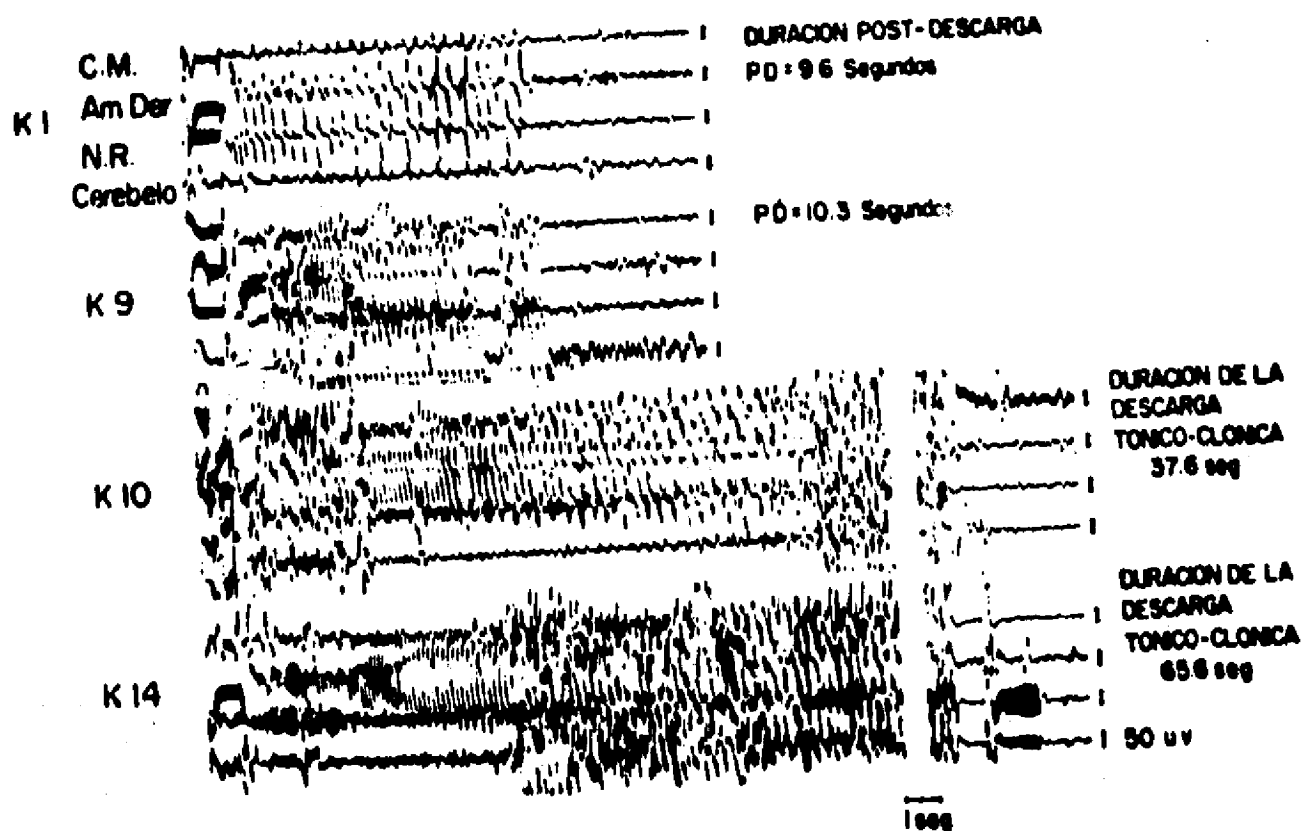


Fig. 5. Registro de la actividad eléctrica cerebral inducida por la estimulación subliminal repetitiva cada 24 horas en la amígdala del lóbulo temporal de un gato con electrodos implantados a permanencia. Los números precedidos por la K significan la cantidad de estímulos aplicados. Obsérvese el aumento progresivo de la duración de la postdescarga y la aparición de la crisis generalizada al aplicar el estímulo 14. (Tomado de Solis y cols. 1978).

KINDLING

ACTIVIDAD ESPONTANEA

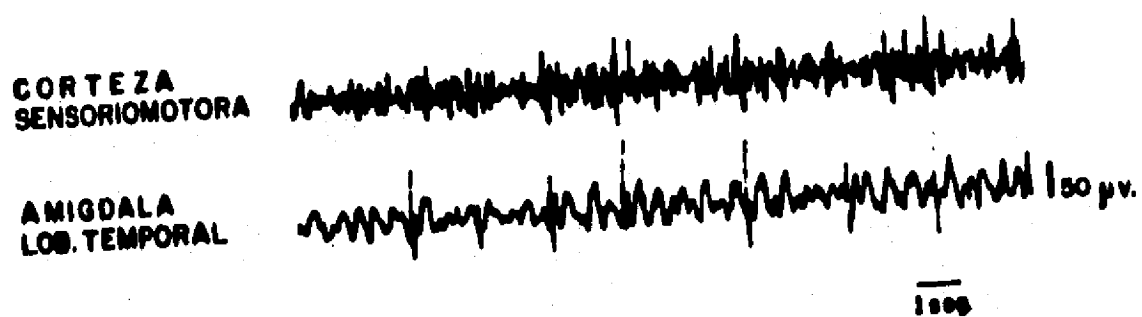


Fig. 6. Registro de la actividad eléctrica cerebral espontánea en una rata en la cual quedó establecido el kindling amigdalino. Nótese la aparición de espigas interictales en la amígdala izquierda y su propagación a la corteza cerebral.

ideal entre un estímulo y otro para obtener el kindling es de 24 horas; sin embargo, se obtiene una buena evolución del kindling con intervalos hasta de 15 minutos. Este hecho facilita la obtención del fenómeno en forma aguda, por ejemplo, en vez de 17 días (un estímulo por día) que se requieren para establecer el kindling en la amígdala del lóbulo temporal, son suficientes 24 o 48 horas para obtener un animal electrosensible bajo el régimen de estimulación de 15 minutos.

En cuanto a la intensidad del estímulo eléctrico, se requieren de 50 a 100 microamperios para desencadenar la primera posdescarga. La duración de dicho estímulo es de 1 a 2 segundos. Los cambios conductuales dependen de la estructura cerebral que se estimula. En 1974, Wada y Sato (65) propusieron una clasificación de los estados conductuales para el gato, y en 1972 Racine (53) propuso otra para la rata. En la tabla IV se resumen ambas clasificaciones.

Varios aspectos que integran el fenómeno del kindling han llamado la atención para estudiar mecanismos celulares a los que se atribuye la epileptogénesis, particularmente sobre la inhibición de la actividad convulsiva por estimulación cerebelosa o por medio de la administración de sustancias anticonvulsionantes (fig. 8) (59). También nos ha interesado el fenómeno del kindling como medio para producir cambios funcionales de larga duración que permita conocer los mecanismos de integración que realiza el SNC, implicados en procesos como el ciclo sueño-vigilia (16). La

GATO C 77-04
CRISIS ESPONTANEA DE ORIGEN FOCAL

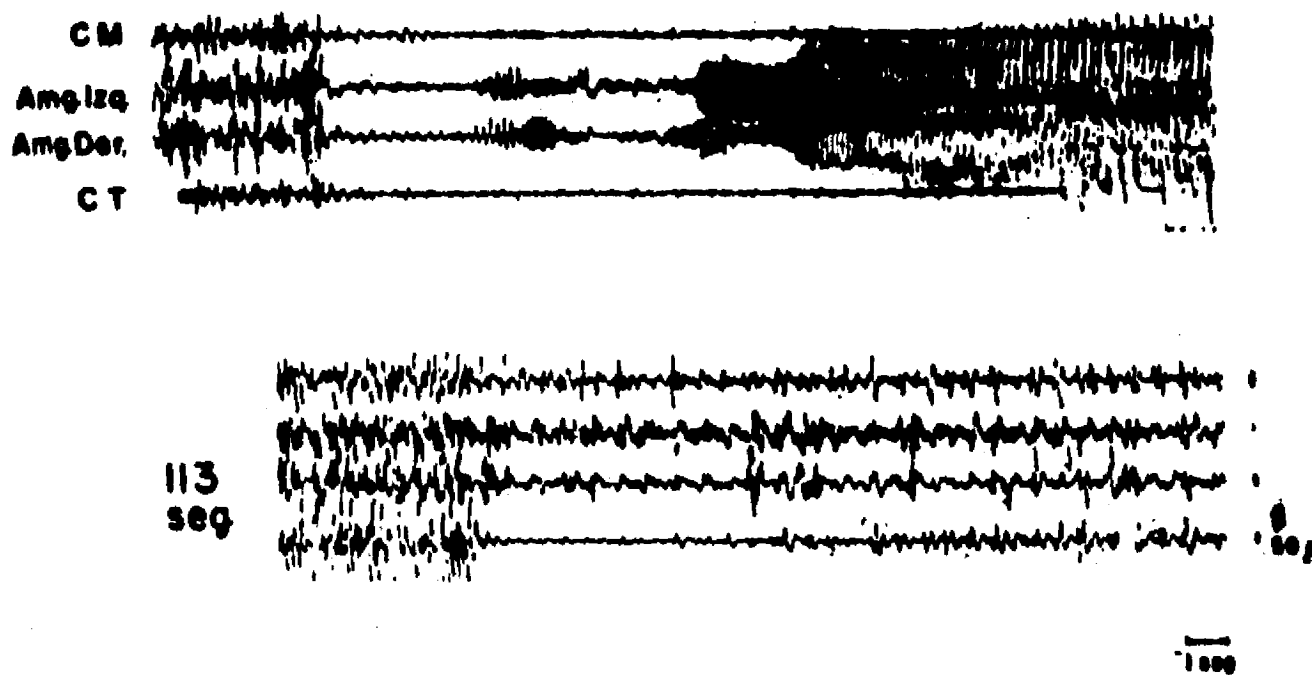


Fig. 7. Aparición espontánea de crisis convulsiva generalizada de origen focal en un gato con kindling ya establecido. Esta crisis espontánea se presentó después de 15 crisis provocadas por estimulación de la amígdala derecha del lóbulo temporal. (Tomado de Solís y cols. 1978).

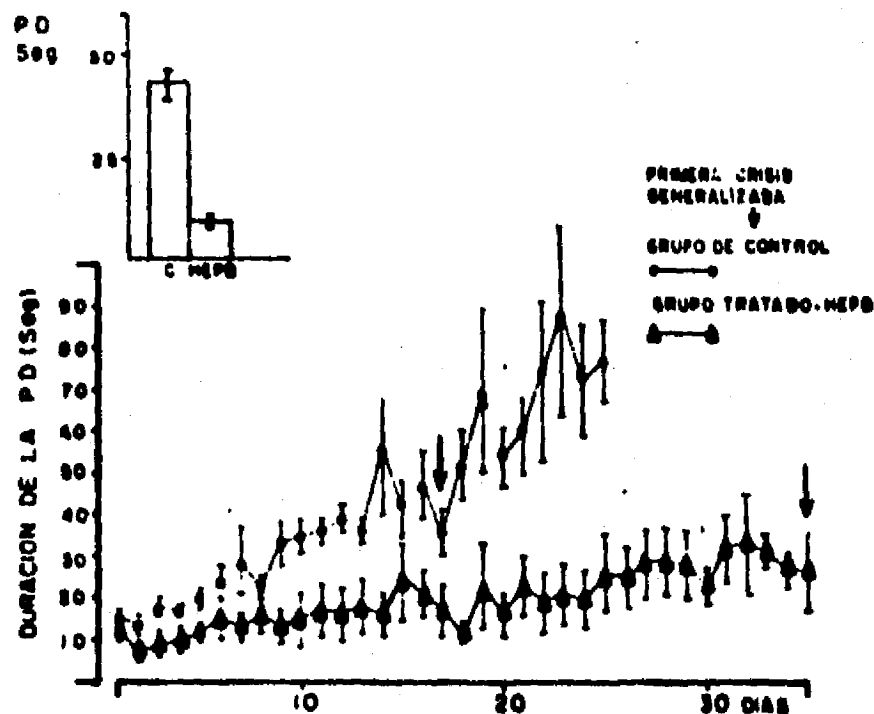


Fig. 8. Gráfica que muestra el aumento progresivo en la duración de la posdescarga a los largo de la estimulación diaria de la amígdala del lóbulo temporal del gato. En la abscisa, días de estimulación. En el histograma del ángulo superior izquierdo se aprecian las duraciones promedio y el error estándar para el grupo control (C) y para el grupo tratado con butiramida(HEPB). Las flechas señalan el día en que apareció la primera crisis generalizada en ambos grupos. (Tomado de Solís y cols. 1978).

T A B L A I V

CLASIFICACION CONDUCTUAL DEL KINDLING

G A T O		R A T A
ESTADO I	SACUDIDAS FACIALES UNILATERALES E IPSILATERALES AL SITIO ESTIMULADO	MOVIMIENTOS DEL HOCICO Y DE LA CARA
ESTADO II	SACUDIDAS FACIALES BILATERALES	MOVIMIENTOS OSCILATORIOS DE LA CABEZA (NODDING)
ESTADO III	SACUDIDAS OSCILATORIAS DE LA CABEZA (NODDING) EL ANIMAL MUESTRA SALIVACION Y DILATACION DE LA PUPILA	SACUDIDAS CLONICAS DE LAS PATAS ANTERIORES
ESTADO IV	DESVIACION DE LA CABEZA CON EXTENSION TONICA DE LA PATA ANTERIOR CONTRALATERAL AL SITIO DE ESTIMULACION, EL ANIMAL CORRE DESCRIBIENDO CIRCULOS	ERECCION, EL ANIMAL SE YERQUE Y SE SOSTIENE CON SUS PATAS POSTERIORES
ESTADO V	SACUDIDAS MIOCLONICAS GENERALIZADAS, RELAJACION DE ESFINTERES	ERECCION Y CAIDA AL SUELO, CRISIS GENERALIZADAS CON PERDIDA DE CONTROL DE LA POSTURA
ESTADO VI	CRISIS CONVULSIVA GENERALIZADA TONICO-CLONICA	

ventaja evidente del fenómeno del kindling radica en la ausencia de sustancias extrañas al organismo en el sitio donde se observa la descarga neuronal epiléptica. Como se ha mencionado, el establecimiento y la evolución de los cambios en la excitabilidad neuronal ocurren de manera gradual, lo cual permite una gran variedad de estrategias experimentales. Existen múltiples datos sobre cómo se desarrolla el fenómeno del kindling y acerca de los cambios anatómicos, funcionales y químicos que se relacionan con él. Dentro de los cambios químicos, sobresalen los siguientes: a) el receptor colinérgico muscarínico está disminuido en los sitios estimulados bajo el paradigma del kindling; sin embargo, la actividad de la acetilcolinesterasa no se modifica; b) la disminución de contenido de noradrenalina cerebral facilita establecer el kindling; c) la destrucción selectiva de neuronas dopaminérgicas mediante la administración de 6-hidroxidopamina no modifica el establecimiento ni la evolución del kindling, y d) la participación del GABA se puede inferir debido a que las benzodiazepinas retardan el desarrollo del kindling y bloquean las crisis generalizadas. Este efecto se debe probablemente a un incremento en la inhibición GABAérgica.

Utilización de cepas mutantes de algunas especies animales como modelos naturales de epilepsia

El mejor modelo de epilepsia natural lo constituye el ser humano que padece crisis convulsivas. Por razones éticas, no es posible disponer del ser humano para valorar aspectos experimentales encaminados a tratar de entender y explicar los mecanismos

celulares involucrados en la epileptogénesis. Por esta razón, el descubrimiento de la existencia de mutantes de algunas especies animales con capacidad de presentar crisis convulsivas sin haber recibido ningún tratamiento mediante técnicas invasivas, ha abierto nuevas perspectivas en estudio experimental de la epilepsia.

En contraste con los MEE inducidos por otros medios, esta categoría de MEE permite estudiar un tipo de crisis convulsivas que para su producción no requieren la acción directa sobre el encéfalo de algún agente físico o químico de origen exógeno. En general, las crisis convulsivas en este tipo de MEE son precipitadas por un incremento en la variedad, intensidad o frecuencia de los estímulos presentes en el medio. El hecho de que las estructuras neurales no hayan sido modificadas previamente en su estructura o en su función mediante procedimientos experimentales, permite que los estudios citológicos, electrofisiológicos, neuroquímicos y genéticos puedan llegar a caracterizar las condiciones naturalmente requeridas para que un individuo genere crisis convulsivas. Es evidente el valor de esta categoría de MEE al estudiar los mecanismos básicos de lo que se conoce en el humano como epilepsia refleja. Sin embargo, el empleo de estos modelos naturales se dificulta, ya que son escasos, se requiere amplia experiencia y cuidado para mantener una cepa de animales, y son costosos.

Fotosensibilidad en el babuino papio-papio

En 1967, Killam y sus colaboradores (27) descubrieron este modelo de epilepsia al estudiar al baboon del Senegal. Se han hecho varios intentos para entender por qué algunos de estos animales muestran fotosensibilidad. Uno de estos intentos ha consistido en valorar si existe algún factor geográfico que determine el grado de fotosensibilidad. En una de sus primeras investigaciones, Killam comunicó que el 60% de los animales mostraban fotosensibilidad. Estos animales fueron capturados en una región llamada Casamance, situada al sureste del Senegal(27). Existen varias publicaciones que describen cómo se distribuye geográficamente la fotosensibilidad en el Senegal.

Se ha investigado la fotosensibilidad en otros cercopitecos y, al parecer, se presenta en menos del 10%. En otras especies, como en los macacos o los chimpancés, es muy rara la fotosensibilidad. La respuesta conductual que se presenta al aplicar la luz intermitente sobre la cara del papio-papio consiste en la aparición de clonus del globo ocular, que es bilateral, regular, rápido y de poca amplitud. Este movimiento clónico puede detenerse al abrir los ojos subitamente, a pesar de que se mantenga el estímulo luminoso. Después de estos movimientos oculares, aparecen sacudidas de los músculos de la cara y luego del cuello, que se generalizan a todo el cuerpo. Esta sintomatología se presenta mientras se mantenga el estímulo luminoso. Existe una sintomatología que se mantiene después de suprimir la estimulación luminosa intermitente (ELI). En seguida

se describe esta sintomatología tal como la comunicaron Naquet y Meldrum (46) en 1972.

La respuesta es de tres tipos:

a) Al suprimir la ELI se presentan algunas sacudidas clónicas de los globos oculares y de la cara, y en ocasiones de todo el cuerpo, que persisten por algunos segundos y desaparecen gradualmente.

b) Las sacudidas clónicas persisten por más tiempo; después, el animal se mantiene con los ojos abiertos, fijos, con las pupilas dilatadas y disminuye su estado de alerta; después, se presentan algunas sacudidas, a veces muy violentas y acompañadas de gritos; al final de este periodo, el animal muestra un estado de confusión durante varios segundos.

c) Después de la última sacudida mioclónica provocada por la ELI, el animal tiene una crisis tónico-clónica seguida de un estado confusional.

La fase tónica se caracteriza por: ojos abiertos, pupilas dilatadas, las mandíbulas fuertemente apretadas y los dientes expuestos, la cabeza extendida, los brazos flexionados sobre el abdomen, los pies en flexión dorsal y el dedo gordo (primer orjejo) en flexión plantar. La fase clónica empieza con sacudidas mioclónicas de poca amplitud, principalmente de la cara, para después generalizarse a todo el cuerpo. La frecuencia y la amplitud de estas sacudidas clónicas disminuyen, y entonces el animal entra en un estado de flacidez de todo el cuerpo; después de dar algunos brincos desorganizados, se recupera en unos

cuantos minutos. En promedio, esta crisis tónico-clónica dura de 30 a 50 segundos. El registro encefalográfico se caracteriza por:

a) aparición espontánea de actividad paroxística localizada principalmente en las regiones frontoparietales, aunque a veces en regiones posrolándicas y temporales (46). Esta actividad paroxística aparece cuando el animal está tranquilo con los ojos cerrados y en sueño de ondas lentas, y desaparece cuando el animal está expectante y durante el sueño paradójico (REM).

b) Aparición de actividad paroxística inducida por ELI. Esta actividad se observa en regiones corticales frontoparietales, así como en algunas estructuras subcorticales, como algunos núcleos talámicos, cápsula interna, formación reticular y en algunos núcleos hipotalámicos.

c) Después de la ELI persiste la actividad paroxística en forma de poliespigas o de ondas agudas, localizadas principalmente en regiones frontoparietales, que se pueden propagar a estructuras subcorticales. Esta actividad paroxística en forma de poliespigas se hace más acentuada y determina la aparición de una crisis tónico-clónica generalizada.

Indiscutiblemente, este modelo es uno de los pocos que ofrecen la gran ventaja de tener actividad paroxística en forma espontánea en el primate, lo cual lo hace muy similar a la epilepsia en el humano.

Crisis convulsivas en el gerbil (Meriones unguiculatus)

El gerbil mongólico es un roedor con una especial sensibilidad

para presentar crisis convulsivas espontáneamente o en respuesta a una variedad de estímulos (25). Las crisis pueden provocarse simplemente al colocar al gerbil susceptible en un ambiente novedoso, y más a menudo si este ambiente nuevo incluye estímulos adicionales. La estimulación ambiental desencadenante de las crisis puede ser por aplicación de gasas con alcohol colocadas en la cercanía del gerbil, manipulación física intensa o luz brillante. Los individuos de cepas seleccionadas genéticamente, como la WJL/UC, presentan 97% de ocurrencia de crisis convulsivas, en contraste con la incidencia de 20 a 80% que pueden encontrarse en una población común de gerbils.

En estas condiciones, la latencia para que se presenten las crisis convulsivas puede variar de 18 a 35 segundos (37), con una duración de 9 a 355 segundos (14). Las crisis convulsivas se caracterizan de acuerdo con el tipo de eventos motores que se presentan, de ahí que Loskota y sus colaboradores (37) las han clasificado en grados: a) grado 0: ausencia de crisis, b) grado 1: el animal tiene desplazamientos normales y hay sacudidas de orejas y vibrizas; c) grado 2: el animal está inmóvil y presenta sacudidas de orejas y vibrizas, d) grado 3: el animal está inmóvil y presenta sacudidas mioclónicas, e) grado 4: el animal presenta crisis tónico-clónicas, f) grado 5: representa las crisis que con mayor frecuencia se presentan y las más elaboradas, que incluyen una secuencia de eventos similares a los siguientes: reducción en la actividad motora; sacudidas espasmódicas de vibrizas, orejas y párpados; el cuerpo se posa sobre el piso;

sacudidas mioclonicas que se inician en las extremidades posteriores y llegan a las anteriores; extensión tónica de las extremidades posteriores; rigidez tónica con hiperextensión de las cuatro extremidades; recuperación de la coordinación motora, con salivación abundante, rotación lenta de la cabeza, inmovilidad y giros retropulsivos, y g) grado 6: incluye las crisis que provocan la muerte del animal.

Los registros electroencefalográficos en estos animales muestran que las primeras manifestaciones de las crisis convulsivas pueden identificarse en la corteza sensitivo motora y de ahí se propagan rápidamente al resto de la corteza. Dichas manifestaciones incluyen paroxismos de hipersincronización de gran amplitud generalizados, como en la epilepsia humana tipo gran mal. La susceptibilidad a la aparición de crisis convulsivas en el gerbil mongólico tiene también relación con la edad del animal. Sólo 5% de los gerbils con un mes de edad presentan convulsiones, 64% a los dos meses y 97% después de los tres meses de edad. Evidentemente, la naturaleza de este modelo ofrece amplias perspectivas al estudiar la participación de la actividad de los centros neurales y vías sensitivas en la generación de este tipo de crisis.

Sensibilidad acústica de ratones

Las crisis audiogénicas se producen por un estímulo sonoro en animales susceptibles a desarrollar convulsiones por dicho estímulo. No es común en mamíferos, donde se incluye al hombre.

La ventaja de este modelo radica en el hecho de que los ratones que presentan esta susceptibilidad son pequeños, baratos y se dispone de ellos fácilmente, puesto que se crían en el laboratorio con relativa facilidad. En estos animales es muy difícil obtener un buen registro electroencefalográfico; por tanto, el patrón de la crisis convulsiva se describe por las características conductuales que muestra el animal. La crisis convulsiva se caracteriza por un periodo pretónico, un periodo tónico y un periodo postónico. La fase tónica empieza con una respuesta de sobresalto y unos segundos después, un aumento en la actividad locomotora hasta que el animal cae en sacudidas clónicas durante dos segundos, aproximadamente. Después de este periodo clónico, el animal queda en un estado de estupor y mantiene posturas forzadas sin responder a estímulos somáticos, no ser estímulos auditivos. Esta susceptibilidad a las crisis convulsivas por estimulación auditiva se puede incrementar mediante la cruce consanguínea de los animales. Dicho procedimiento se conoce como "inbred strain" y consiste en cruzar una pareja hermano-hermana o padre-hijo por lo menos 20 generaciones consecutivas. Después del cruzamiento de 20 generaciones, se postula que 99% de los caracteres genéticos están en la condición homocigótica. Dos cepas se han mantenido por un largo tiempo y muestran una gran susceptibilidad audiogénica: son las denominadas SJL/J y DBA/2J.

CAPITULO 2
SECCION EXPERIMENTAL

Estudio microiontoforético en un modelo de epilepsia experimental

La mayoría de los mecanismos que se han propuesto para explicar la descarga epiléptica sugieren una excesiva entrada sináptica a la célula o cambios en la excitabilidad neuronal que determinan un bajo umbral de descarga y en la aparición de actividad autosostenida que hace que las células generen despolarizaciones paroxísticas (PD). Es posible que estas modificaciones en la excitabilidad neuronal, se deban a un cambio en la sensibilidad del receptor membranal a un determinado neurotransmisor. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo es el de analizar la sensibilidad del receptor postsináptico por medio de la aplicación de sustancias cuyo efecto farmacológico es conocido y que además las células de la región sensitivo-motora de la corteza cerebral de la rata muestran una particular sensibilidad. Se utilizó la acetilcolina (ACh) y como antagonista la atropina.

Material y métodos

Se utilizaron ratas de 250-300 gramos de peso anestesiadas con uretano (1.5 g/kg i.p), inmovilizadas con bromuro de pancuronio y mantenidas vivas con respiración mecánica (Fig.9). Se colocaron dos electros de estimulación en la corteza sensitivomotora a través de los cuales se aplicaron estímulos eléctricos consistentes en un tren de pulsos bifásicos, con duración de un milisegundo cada pulso, y con una frecuencia de 100 p.p.s; la duración del tren fue de un segundo. Los estímulos se aplicaron

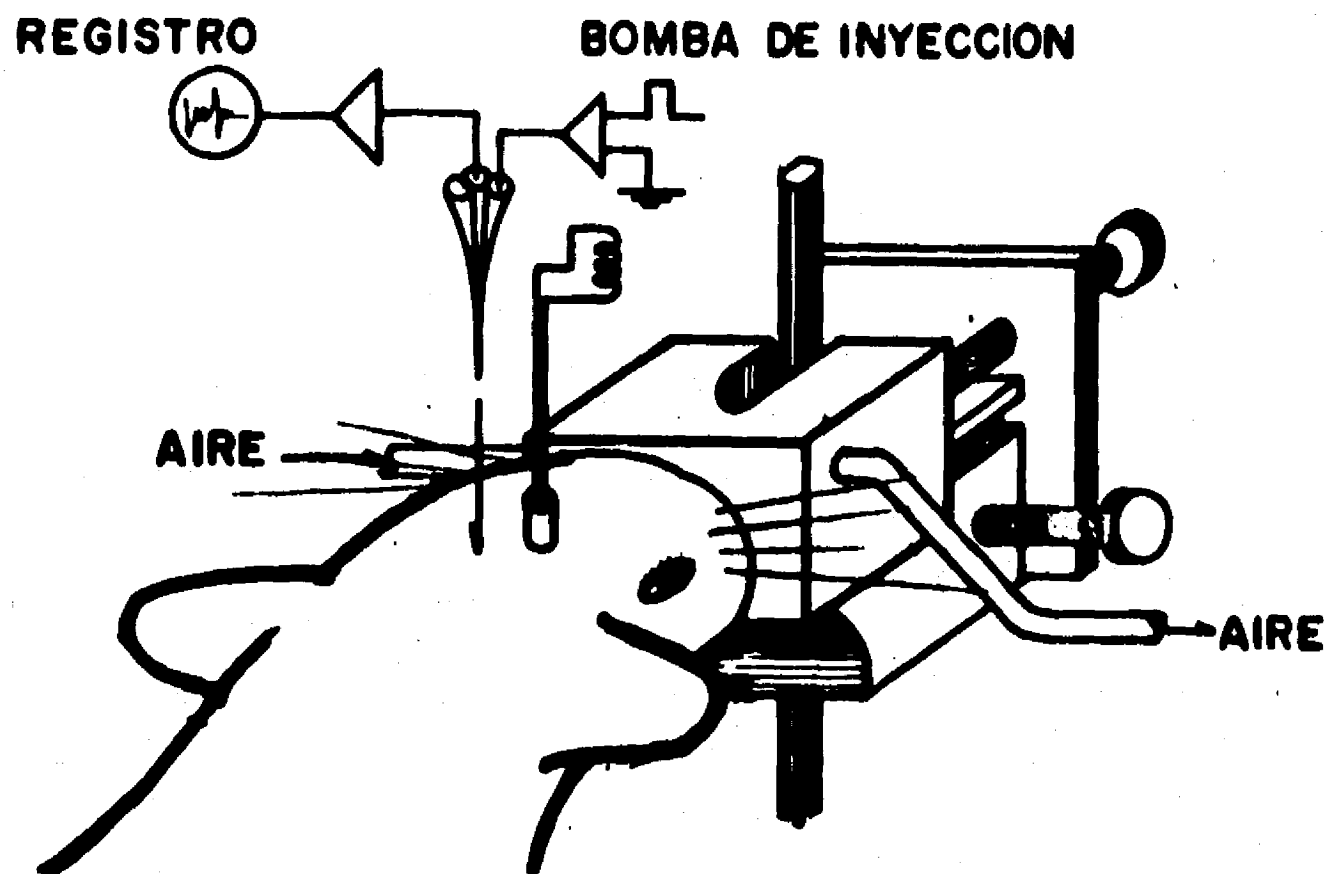


Fig. 9. Representación esquemática del arreglo experimental usado para registrar, estimular e inyectar microiontoporéticamente sustancias neuroactivas. La rata está anestesiada e inmobilizada y mantenida viva mediante respiración mecánica. Los estímulos eléctricos se aplicaron sobre la corteza cerebral y para activar antidrómicamente las neuronas registradas se colocó un electrodo bipolar ya sea en el núcleo ventrolateral del tálamo o en el tracto piramidal (TP).

con un intervalo de 20 minutos. Las respuestas postestímulo se registraron con un par de electrodos de plata-clorurada colocados sobre la corteza cerebral y en la vecindad de los electrodos de estimulación. La posdescarga (PD) se registró, y se graficó la duración de cada una de ellas en función del número de estímulos que se aplicaron. El registro individual de una neurona se obtuvo mediante el electrodo central de un electrodo múltiple, en el cual, los electrodos de la periferia sirvieron para la aplicación iontoforética de la Ach (0.5, 1 M. Ph 5, Sigma), de la atropina (25 mM o 0.1 M, Ph 5), y del L-Glutamato (L-Glu 0.5, 1 M Ph 7). Las sustancias se disolvieron en solución salina de NaCl. Uno de los electrodos también se utilizó para el control automático de la corriente de inyección (NaCl). La dosis se cuantificó en función de la corriente iontoforética inyectada y en algunas ocasiones se utilizó aire a presión (nitrógeno) para la eyección de las sustancias. La respuesta de la célula se valoró antes y después de que se estableciera el kindling en la corteza cerebral.

Los registros se efectuaron en el área sensitivo motora de la corteza de la rata, en donde la extremidad anterior tiene su representación somatotópica (0.8 mm posterior a bregma y 1 mm lateral). La actividad unitaria se amplificó con métodos convencionales y se observó en un osciloscopio el potencial de acción de tal manera que, a través de una ventana discriminadora de voltaje, estos potenciales se convirtieron en pulsos rectangulares de amplitud y duración adecuadas para la computadora, por medio de la cual se elaboraron histogramas de

distribución de frecuencias. En una grabadora de instrumentación se almacenó el registro de la actividad electroencefalográfica, de la actividad neuronal individual y de las posdescargas inducidas por cada estímulo para un análisis ulterior. Se seleccionaron neuronas que mostraron un patrón de actividad estable y una adecuada morfología en su potencial de acción por lo menos durante 5 minutos. Se utilizaron corrientes de inyección en un rango de 5 a 150 nanoamperes. Al final de cada registro, se dejó una marca con azul de pontamina que contenía el electrodo de registro al pasar corriente de 10 microamperios. Al final del experimento, los animales se sacrificaron con una sobre dosis de pentobarbital y se perfundieron con formol al 10%. Se extrajo el cerebro y se hicieron cortes por congelación de 30-50 micras de grosor, los cuales se colocaron en una ampliadora fotográfica y se reconstruyó e identificó la marca de azul de pontamina dejada por el electrodo (22). Además, se obtuvo un control de la profundidad a la que penetró el electrodo de registro por medio de la lectura en micras que se tiene en el micromanipulador que es el que hace avanzar el electrodo. Las diferentes capas de la corteza cerebral, se numeraron del I al VI, las laminas V y VI se subdividieron en Va, Vb, y VIa, VIb respectivamente, de acuerdo a la clasificación propuesta por Krieg (32) y por Wise y Jones (70).

CAPITULO 3

Resultados

La figura 10, ilustra los cambios en la actividad electroencefalográfica que se obtienen al estimular la corteza cerebral con el régimen de estimulación descrito previamente. Resulta evidente el cambio en la excitabilidad neuronal al analizar la duración de la postdescarga (PD) en función de los estímulos eléctricos aplicados. En este caso se ejemplifica con la gráfica tanto la duración de la PD en segundos, como el número de estímulos (ensayos). Para considerar que el kindling ya se estableció, se aplicaron no menos de 15 estímulos.

En cuanto a los cambios en la frecuencia de disparo de la célula (responsividad) por la aplicación iontoforética, se observó un aumento significativo en la frecuencia de descarga promedio por la aplicación de Ach o de L-glutamato. La respuesta fue generalmente más intensa (70 a 90% mayor) cuando se aplicaron corrientes de 2 a 150 nanoamperes en la corteza con kindling ya establecido, es decir, con actividad interictal espontánea y con postdescargas con duraciones de hasta 60 segundos. En la corteza cerebral que no recibió ningún estímulo eléctrico, se consideró la respuesta a la inyección como control. En esta corteza, la aplicación iontoforética de Ach, provocó respuestas de menor magnitud, (un 25% de cambio) es decir, se observó menor responsividad, con intensidades de corriente de inyección similares a las aplicadas en la corteza con kindling ya establecido.

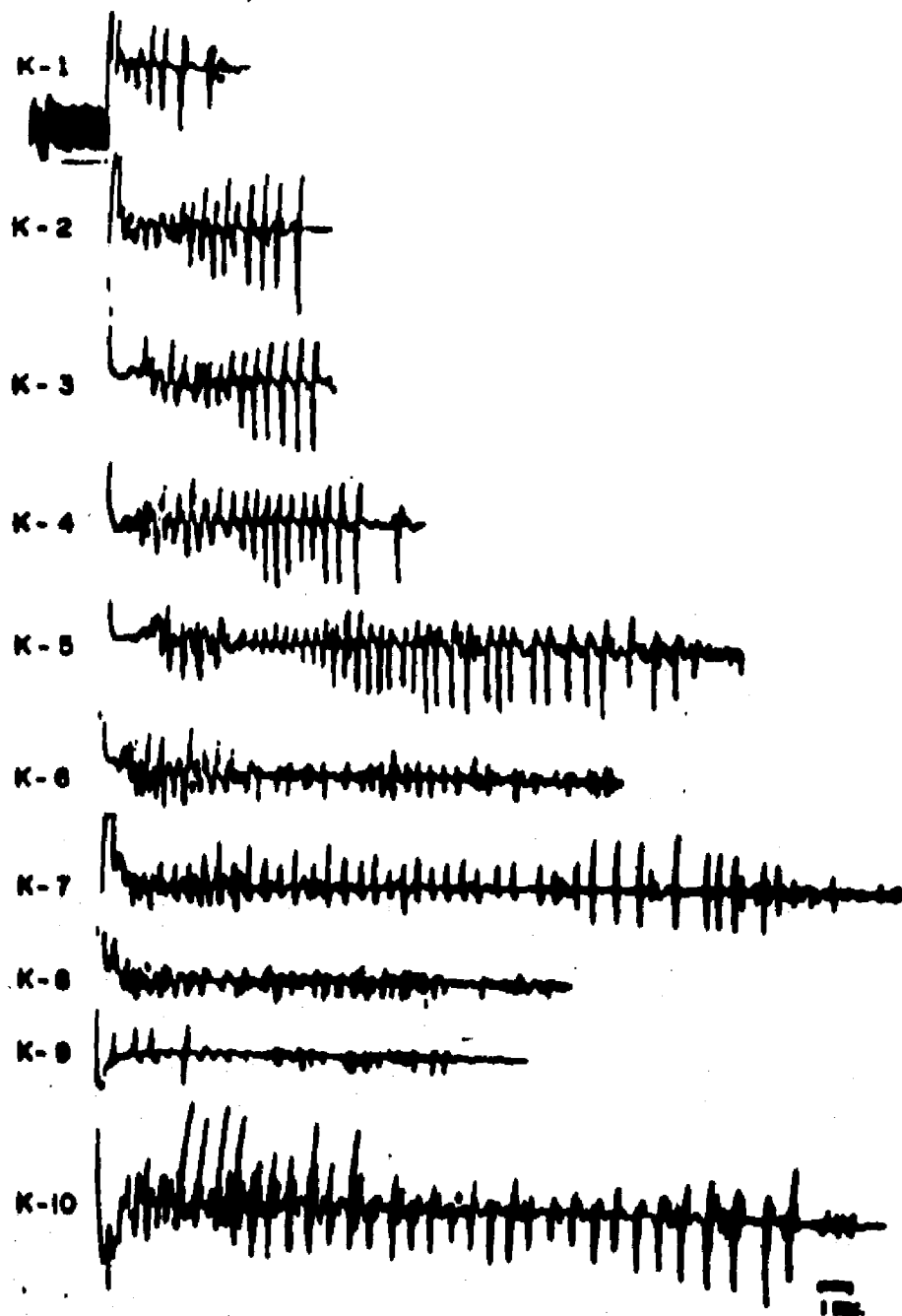


Fig. 10. Registro electroencefalográfico de las postdescargas (PD) que se obtienen en el kindling de la corteza somatosensorial. Los estímulos se aplicaron con un intervalo de una hora y solamente se ilustran 10 postdescargas.

Las figuras 11, 12 y 13 muestran la respuesta de las células a diferentes intensidades de corriente de inyección tanto en la corteza normal (A) como en corteza con kindling ya establecido (B). Las respuestas de las células fueron menos intensas a la aplicación de NaCl con corrientes de igual intensidad a las utilizadas para movilizar la Ach o el L-glu.

Los registros se llevaron a cabo a diferentes niveles de profundidad de la corteza cerebral. Se estudiaron un total de 532 células de ratas con corteza cerebral normal; y 613 células de ratas con corteza cerebral con kindling ya establecido. La distribución porcentual de estas células en cada una de las láminas de la corteza cerebral en ambas condiciones experimentales, y los sitios donde fueron registradas, se ilustra en las figuras 14, 15 y en la Tabla V.

Es importante hacer notar, que el mayor porcentaje de células sensibles a la Ach, se encontró en las láminas Vb y VIa tanto en la corteza normal como en la corteza epiléptica. Sin embargo, en la corteza con kindling ya establecido fue más fácilmente registrar células sensibles a la Ach en las capas I, II-III, IV y Va. Esto sugiere que los cambios en la excitabilidad neuronal determinan que células con poca actividad espontánea y con un campo receptivo pequeño, se conviertan en células con un patrón de actividad más activo y con un campo receptivo más amplio y lo que probablemente haga que la descarga se propague y se automantenga en otras capas de la corteza cerebral.

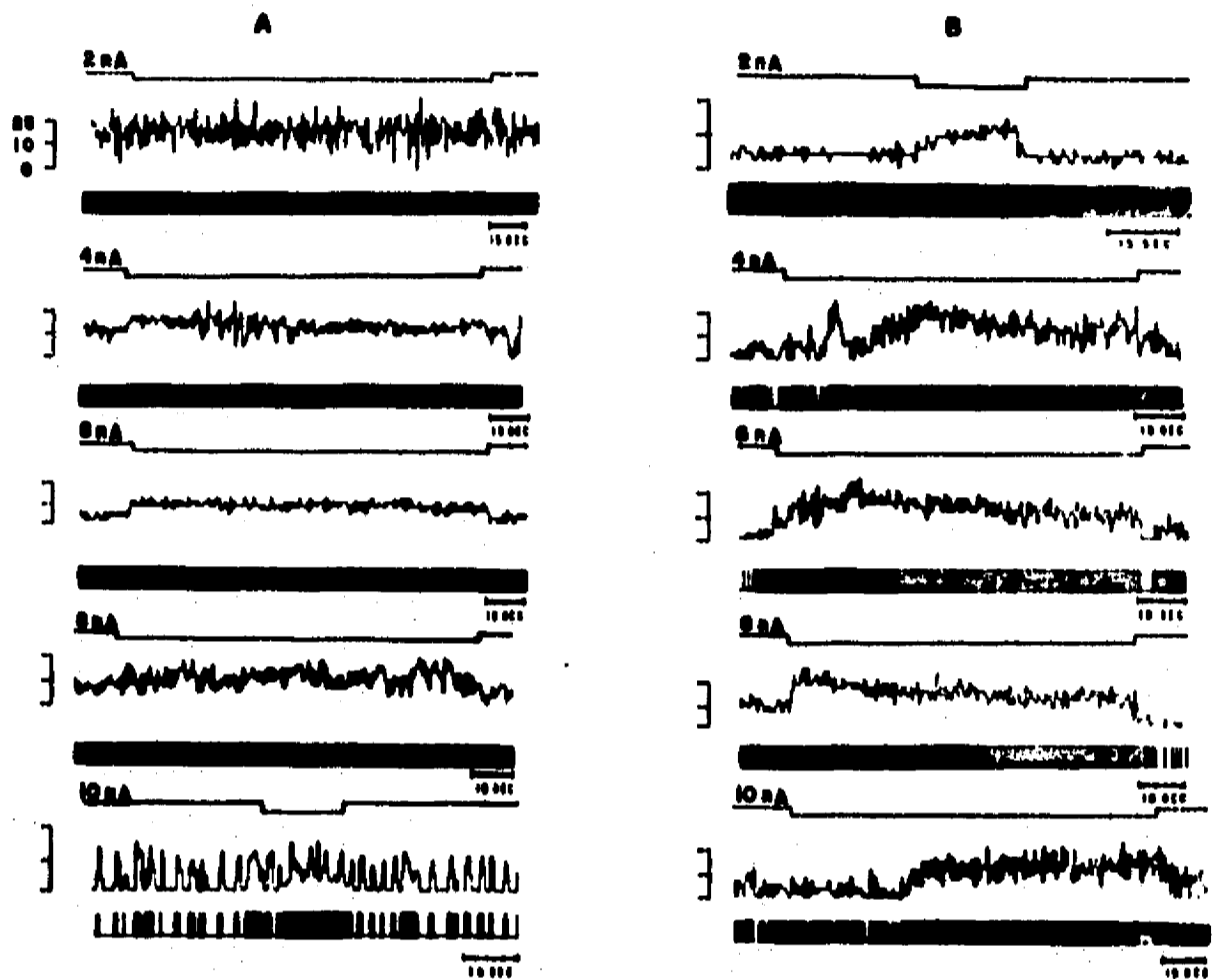


Fig. 11. Respuestas que muestran diferentes células a la aplicación iontoporética de ACh desde 2 nA a 10 nA. En A) corteza normal, en B) corteza con kindling ya establecido. El trazo superior muestra el momento en que se aplica la corriente de inyección. Los histogramas muestran la frecuencia de disparo de la neurona, y el trazo inferior los pulsos generados por la ventana discriminadora de amplitudes. La respuesta es más intensa en la corteza con kindling ya establecido que en la corteza normal con corrientes de inyección de la misma intensidad.

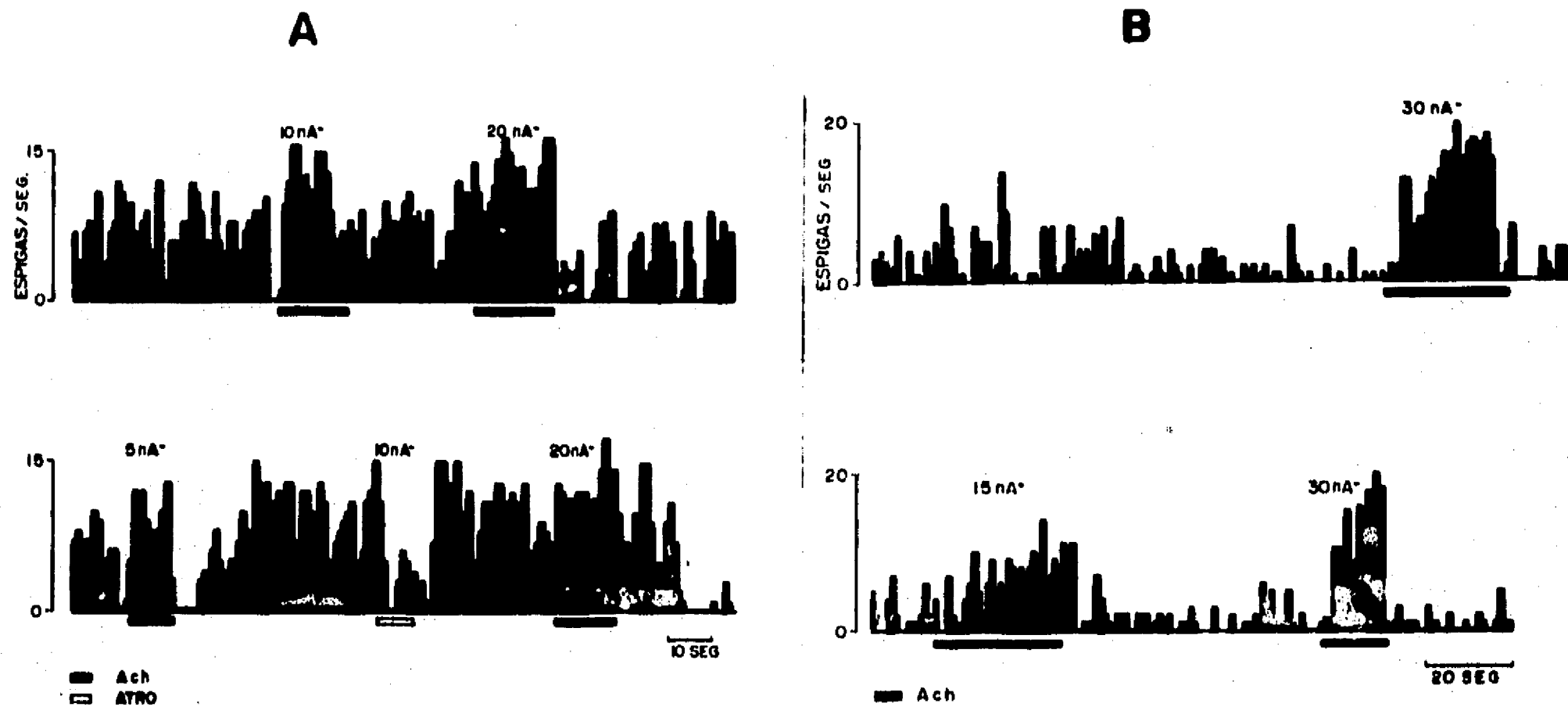


Fig. 12. Efecto de la aplicación iontoporética de ACh sobre una célula de la corteza sensoriomotora normal (A) y sobre una célula de corteza con kindling ya establecido (B). La célula en (A) se registró en la lámina Va y respondió a la estimulación del núcleo VL del tálamo con una latencia de 4.5 msec. En (B) la célula se registró en la lámina Vb y se activó con una latencia de 2 msec. por la estimulación del haz piramidal. La actividad neuronal se muestra en forma de histogramas de frecuencias y las barras horizontales indican el momento de la inyección y los números la intensidad de corriente inyectada.

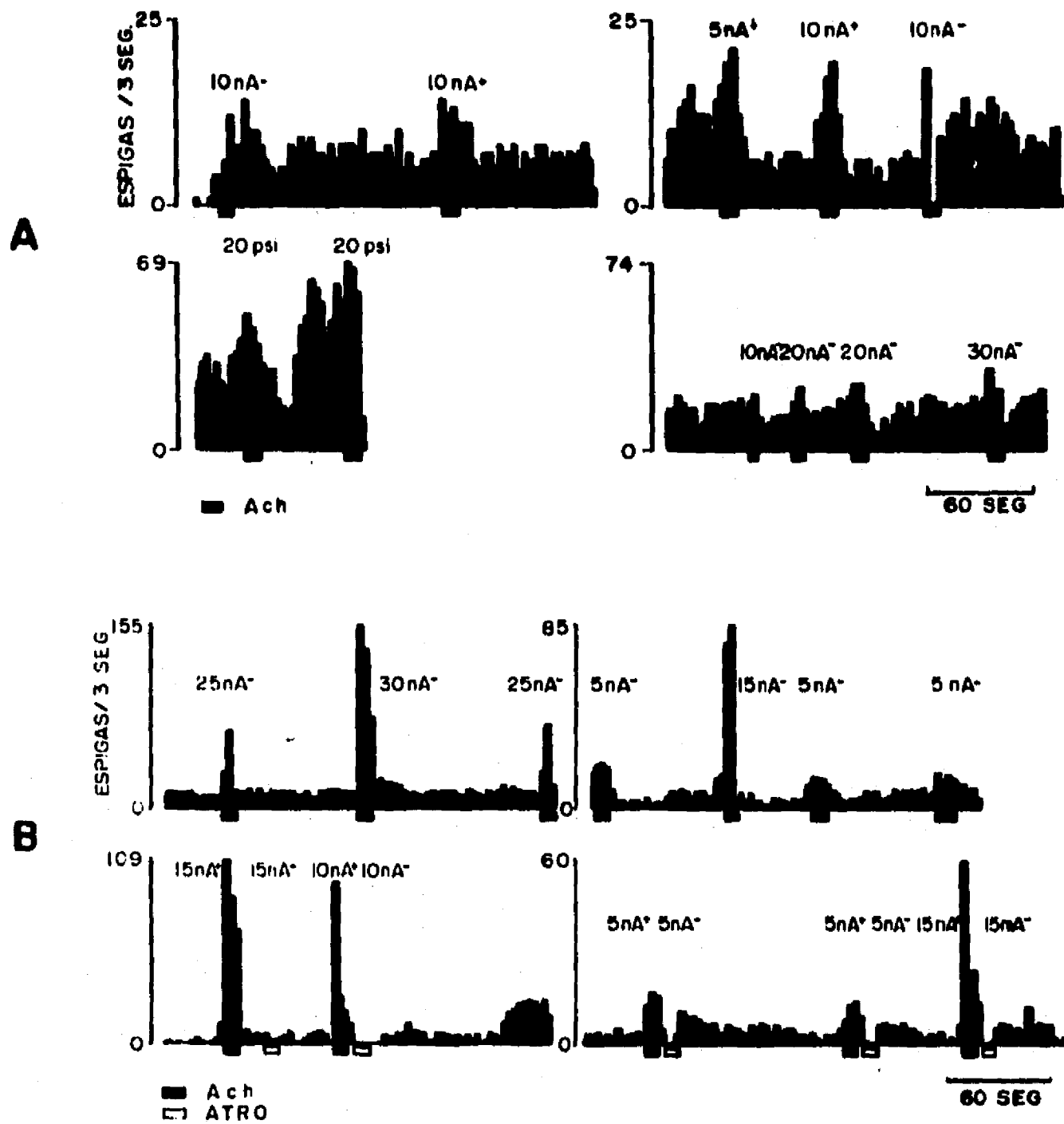


Fig. 13. Respuestas a la aplicación de Ach y de atropina en diferentes células de la corteza cerebral. (A):normal; (B):con kindling ya establecido. Las células de (A) se registraron en la lámina Va, mientras que las células en (B) se registraron en la lámina Vb. Nótese que las respuestas en (B) son mayores que en (A) con intensidades de corriente muy parecidas. Estas células también mostraron sensibilidad a la aplicación de atropina, lo que está indicado por el pequeño rectángulo vacío que señala el momento de la inyección. Se indican también dos inyecciones con gas (nitrógeno) a una presión de 20 psi.

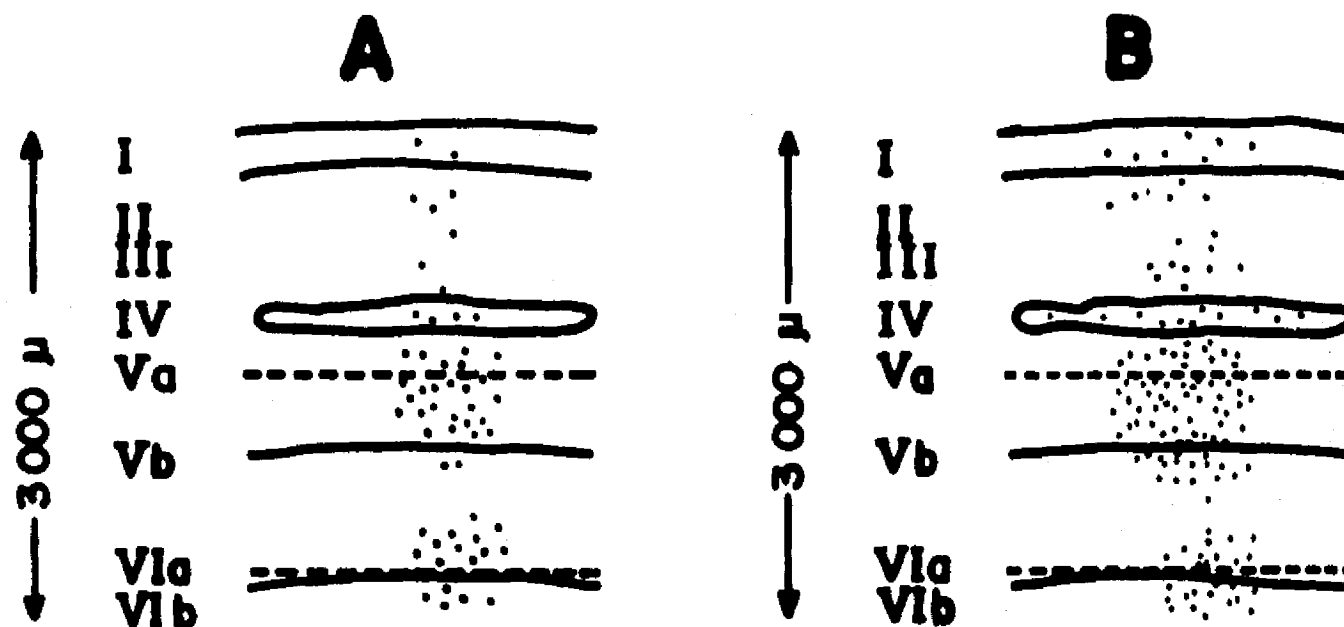
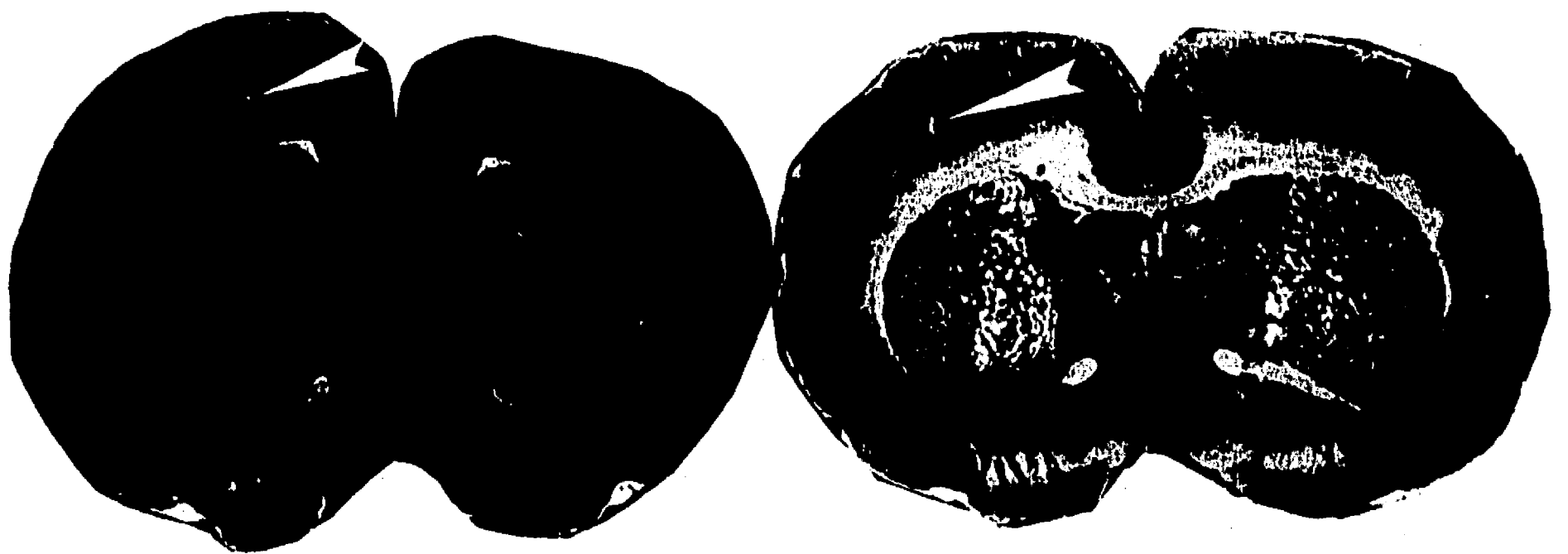


Fig. 14. Los esquemas muestran las diferentes láminas de la corteza somatosensorial en un corte coronal. En (A) se muestran los sitios donde se registraron las células que mostraron sensibilidad a la Ach. En (B) se muestran las que mostraron ser colinoceptivas en la corteza con kindling ya establecido. En ambas cortezas se encontró una distribución similar de células acetilcolinoceptivas, sin embargo, en la corteza epiléptica el número de células sensibles es mayor y se distribuyen más ampliamente dentro de las diferentes capas de la corteza cerebral.

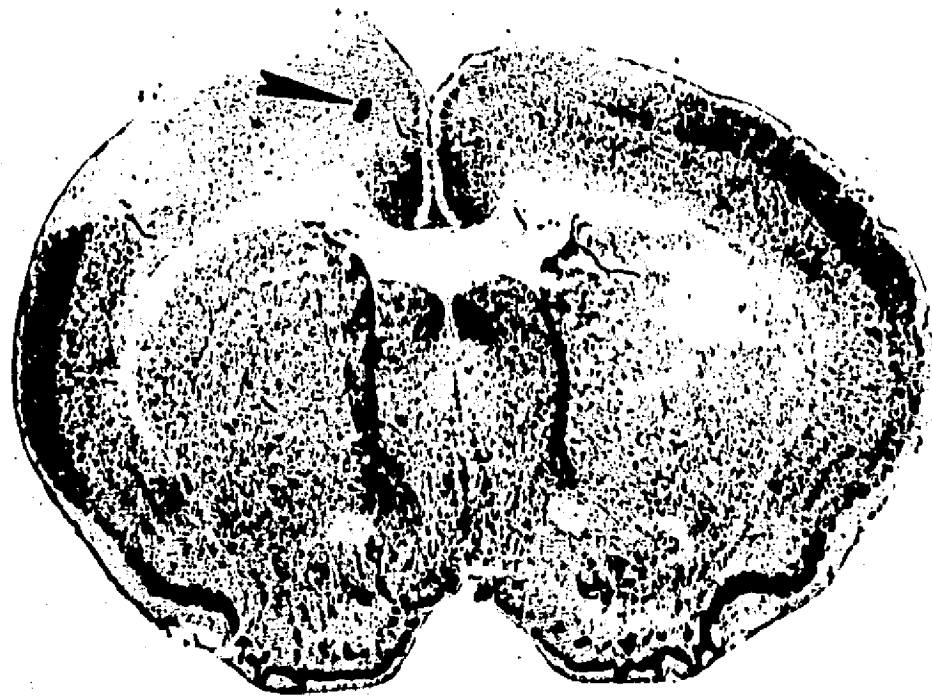
LAMINAS DE LA CORTEZA CEREBRAL	A			B		
	NUMERO DE CELULAS	SENSIBLES A Ach	% DE CELULAS	NUMERO DE CELULAS	SENSIBLES A Ach	% DE CELULAS
I	2	1	50.0 %	8	4	50.0 %
II-III	40	5	12.5 %	15	8	53.3 %
IV	60	10	16.6 %	10	5	50.0 %
Va	90	20	22.2 %	70	30	42.8 %
Vb	110	70	63.6 %	180	130	72.2 %
VIa	120	85	70.8 %	190	120	63.15 %
VIb	80	50	62.5 %	90	70	77.7 %
SB	30	12	40.0 %	50	25	50.0 %
TOTAL	532	253		613	332	

Tabla V. Se ilustra el número de células y el porcentaje del total de neuronas registradas en cada una de las diferentes láminas de la corteza cerebral. A:corteza normal, B:corteza con kindling ya establecido. Nótese el aumento en el porcentaje de células registradas en las láminas I,II,III y IV en la corteza epiléptica.



69

Fig. 15. Cortes coronales del cerebro de la rata que muestran el sitio donde se registraron las células acetilcolinoceptivas. La marca dejada por el azul de pontamina sirvió para la reconstrucción de la trayectoria del electrodo, y para ubicar la punta del mismo. Además, la localización de la célula se estableció de acuerdo a la lectura del micromanipulador que es el que controla la profundidad de penetración del electrodo.



Ver pie de figura 15.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

De las células registradas en las láminas IV y Va, la mayoría de ellas se activaron por estimulación de el haz piramidal (tracto piramidal:TP), o por la estimulación de núcleo ventrolateral del talamo (VL). La latencia de respuesta por la estimulación del TP fue de 2 a 3 milisegundos y de 1.5 a 2 milisegundos por la estimulación del VL. La mayoría de las células registradas en las láminas Via y Vib, láminas más profundas, no mostraron activación antidrómica por la estimulación ya sea del TP o del VL.

CAPITULO 4

Discusión

La Ach se considera como un neurotransmisor en el SNC y particularmente específico para algunas neuronas de la corteza cerebral (34,35,36). La acción que ejerce este neurotransmisor sobre las células de la corteza cerebral por lo general es de excitación, sin embargo, también provoca inhibición de algunas neuronas de las capas más superficiales de la corteza cerebral (54,34), en el hipocampo, en la médula espinal y en el hipotálamo. Se ha planteado que esta diferencia en su forma de acción, ya sea provocando excitación o inhibición, depende de el tipo de receptor involucrado, considerando que la excitación se debe a la estimulación del receptor muscarínico, y que la acción farmacológica sobre el receptor nicotínico dentro del SNC no está bien establecida, y se sugiere, por ejemplo, que la nicotina tiene su acción neurofarmacológica en el cerebro mediante un mecanismo no colinérgico (1).

Es un hecho ya conocido que la aplicación de Ach o de agonistas colinérgicos, o de una sustancia inhibidora de la acetilcolinesterasa, como la fisostigmina, provoca actividad convulsiva en la corteza cerebral ya sea aplicada localmente o por vía sistémica (33,42,66). Aunque la mayoría de la información acerca del efecto convulsivo de la Ach está basada en el uso de agonistas muscarínicos, existe evidencia de la participación de los receptores nicotínicos, ya que la aplicación intracerebral de nicotina o de agonistas nicotínicos (d-tubocurarina, alfa-

bungarotoxina) provocan crisis convulsivas (1, 5).

Existe amplia información sobre la relación que guardan los mecanismos colinérgicos y el fenómeno del kindling. Este interés sobre la participación de la Ach en el proceso del kindling se basa en el hecho de que es posible producir el kindling por la administración ya sea de agonistas colinérgicos, como el carbacol (68,69,71) o de inhibidores de la acetilcolinesterasa, como la fisostigmina (19,20). Este kindling colinérgico, al parecer está mediado a través de receptores muscarínicos (42,43).

Con respecto al kindling eléctrico, al parecer se desarrolla una hipersensibilidad neuronal a la Ach incluso desde las primeras estimulaciones eléctricas. Esta hipersensibilidad, valorada en función de la responsividad de la célula a la aplicación iontoforética de la Ach, se observa minutos después de la aparición de la postdescarga y guarda una relación con la duración de ésta, es decir, a mayor duración de la PD, mayor es la responsividad de la célula a la Ach. Lo anterior se ha observado en el kindling del hipocampo (9) y en la corteza somato sensorial de la rata (60). Arnold (4) ha comunicado que la atropina retarda significativamente el establecimiento de kindling, aunque existen trabajos que señalan que la atropina no modifica la evolución normal del fenómeno (6,11). Sin embargo siguen apareciendo comunicaciones que señalan que la atropina aumenta el número de espigas interictales en los animales eléctricamente sensibles, es decir con el kindling ya establecido, lo que señala la importancia de que hay que

considerar el grado de actividad epiléptica que tienen los animales para que la atropina muestre efecto farmacológico.

En cuanto al cambio en el receptor involucrado, al parecer, el kindling en el hipocampo se asocia a un aumento significativo en el número de receptores muscarínicos (45) lo que está en estrecha relación con los estudios microiontoforéticos que señalan un aumento significativo en la responsividad de la célula a la aplicación iontoforética de la Ach y su inhibición por la administración de atropina. Sin embargo, McNamara (43) señala en su trabajo sobre la unión específica del receptor muscarínico, una disminución en los sitios de unión en el kindling amigdalino. Esta discrepancia, bien puede deberse, como el autor mismo señala, a la estrategia experimental utilizada para inducir el kindling, a la estructura estimulada (hipocampo-amígdala del lóbulo temporal) y el método bioquímico para medir los sitios de unión.

Los resultados del presente estudio señalan que: la mayoría de las células sensibles a la Ach se encuentran en las láminas más profundas de la corteza cerebral, en particular las láminas Va y Vlb. Esta distribución de células acetilcolinoceptivas se modifica cuando la corteza cerebral muestra actividad convulsiva ya que se registraron células sensibles a la Ach en las láminas I, II, III y IV. Este hecho sugiere la posibilidad de un aumento en la afinidad del receptor colinérgico en neuronas de estas láminas de la corteza cerebral cuando se modifica su

excitabilidad por la aplicación de los estímulos eléctricos.

El efecto excitatorio observado por la administración de Ach parece estar mediado a través de receptores muscarínicos ya que la mayoría de las células mostraron inhibición por la administración de atropina.

Finalmente, los resultados de este trabajo sugieren una fuerte participación de los mecanismos colinérgicos en la epileptogénesis.

Bibliografía

1. Abood, L.G., Lowry, K., Tometsko, A. and MacNeil, M. "Evidence for a non cholinergic site for nicotine's action in the brain, Psychopharmacological, electrofisiological and receptor binding studies", Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 237, (2):213-229, 1979.
2. Alemán-Alemán, V. y Martínez de Muñoz, D., "Effect of different convulsant drugs on some seizure parameters in morphine dependent mice", Exp. Neurol. 80:451-456, 1983.
3. Arauz-Contreras, J., "Efecto del rojo de rutenio sobre la actividad motora de la rata", tesis de maestría en Ciencias Biomédicas, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jal. México, 1983.
4. Arnold, P.S., Racine, R.J. and Wise R.A. "Effects of atropine, reserpine, 6-hydroxydopamine, and handling on seizure development in the rat. Expl. Neurol. 40:457-470, 1973.
5. Ashorabi, R.B., Guha, D. and Pradhan, S.N., "Electrophysiological correlates of the behavioral effects of tubocurarine in conscious cats" Psychopharmacology (Berlin) 64(3): 349-353, 1979.
6. Ashton, D., Leysen, J.E. and Weiler. "Neurotransmitters and receptor binding in amygdaloid kindled rats: Serotonergic and noradrenergic modulatory effects" Life Sci. 27: 1547-1556, 1980.
7. Ayala, G.F., Matsumoto, H., y Gurnit, R.J., "Excitability changes and inhibitory mechanism in neocortical neurones during seizures", J. Neurophysiol. 33:73-85, 1970.
8. Bhagavan, H.N., Coursin, D.B y Stewart, C.N., "Monosodium glutamate induces convulsive disorders in rats", Nature, 232:275-276, 1971.
9. Burchfiel, J.C., Duchoway, M.S. and Duffy, F.H. "Neuronal Supersensitivity to Acetylcholine Induced by Kindling in the Rat Hippocampus" Science 204: 1096-1098, 1979.
10. Contreras, C.M., González-Estrada, T., Zarabozo, D. y Fernández-Guardiola, A., "Petit mal and gran mal seizures produced by toluene or benzene intoxication in the cat", Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 46:290-301, 1979.
11. Corcoran, M.E., Wada, J.A., Wake, A. and Urstad, H. "Failure of atropine to retard amygdaloid kindling. Exp. Neurol. 51, 271-275, 1976.
12. Curtis, D.R. y Felix, D., "The effect of bicuculine upon synaptic inhibition in the cerebral and cerebellar cortices of the cat" Brain Res. 34:301-321, 1971.

13. Escobedo, F., Fernández-Guardiola, A., Contreras, C.M y Solís, H., "Electrical stimulation of the cerebellum in humans related to behavioral disorders", págs. 77-96, En: Neurosurgical treatment in Psychiatry pain and epilepsy. W.H.Sweet, S. Obrador y J.G. Martín-Rodríguez (Eds.), University Park-Press, Baltimore, 1977.
14. Feria-Velasco, A., Velasco, M. y Velasco, F., "Estudio ultraestructural de la corteza cerebral motora en epilepsia producida experimentalmente con crema de alúmina en gatos", Arch. Inv. Méd. (Méx.). 5:1-16, 1974.
15. Fernández-Guardiola, A., Contreras, C.M., Calvo, J.M., Ayala, F., Brailowsky, S., Solís, H. y Salgado, A., "Changes in spontaneous neuronal firing in cerebellum, red nucleus and raphe nuclear complex during convulsive activity", págs. 19-36. En: The cerebellum, epilepsy and behavior. Plenum Publishing, Co. S.I. Cooper, M. Riklan y R.S. Snider (Eds.), Nueva York.
16. Fernández-Guardiola, A., Solís, H., Jurado, J.L., Contreras, C.M., Condés, M. y González-Estrada, T., "Influence of the cerebellum on certain types of behavior". Págs. 77-96. En: Neurosurgical treatment in Psychiatry, pain and epilepsy. W. H. Sweet., S. Obrador. y J.G. Martín-Rodríguez (Eds.). University Park Press. Baltimore, 1977.
17. Fisher-Williams, M., Poncet, M., Richie, D. y Naquet, R., "Light induced epilepsy in the baboon Papio-papio: cortical and depth recording". Electroenceph. clin. Neurophysiol. 25: 557-569. 1968.
18. Fritch, G y Hitzing, E., "Ueber die elektrische erregbarkeit des grosshirns. Arch. fur anatomische physiologische wissenschaftliche", Medizin. 37:300-332, 1970.
19. Girgis, M. "Participation of muscarinic cholinergic receptors may be an important requirement of the kindling process" Expl. Neurol. 70: 458-461, 1980.
20. Girgis, M. "Neuronal hypersensitivity to acetylcholinesterase inhibitors induced by a kindling stimulus in the rabbit brain" Brain Res. 208: 379-386, 1981.
21. Goddard, G.V., McIntyre, D.C. y Leech, D.K., "A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation", Exp. Neurol. 25: 295-330, 1969.
22. Guzmán-Fidres, C., Alcaraz, M. y Fernández-Guardiola, A. "Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology", Bol. Estud. Méd. Biol., Méx. 16: 29-31, 1958.
23. Jonec, V. and Wasterlain, C.G. "Anticonvulsant block chemical kindling", Neurology 31(2) 157, 1981.

24. Kaplan, H. y Mizejeski, C., "Development of seizures in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*)", *J. Comp. Physiol. Psychol.* 81: 267-273, 1972.
25. Kaplan, H., "What triggers seizures in the gerbil (*Meriones unguiculatus*)", *Life Sciences*, 17: 693-698, 1973.
26. Kenney, R.A. y Tidball, C.S., "Human susceptibility to oral monosodium L-glutamate", *Am. J. Clin. Nutr.* 25: 140-146, 1972.
27. Killam, K.F., Killam, E.K. y Naquet, B., "An animal model of light sensitive epilepsy", *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 22: 497-513, 1967.
28. Kopeloff, L. M., Barrera, S. E. y Kopeloff, N., "Recurrent convulsive seizures in animal produced by immunologic and chemical means", *Am. J. Psychiatry.* 98: 881-902, 1942.
29. Kopeloff, N., Whittier, J.R., Pacella, B. y Kopeloff, L.M., "The epileptogenic effect of subcortical alumina cream in the rhesus monkey", *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 2: 163-168, 1950.
30. Kopeloff, L. M., Chusid, J. G. y Kopeloff, N., "Chronic experimental epilepsy in macaca mulata", *Neurology*, 4: 218-227, 1954.
31. Kopeloff, L. M., "Experimental epilepsy in the mouse", *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 104: 500-504, 1960.
32. Krieg W.J.S "Connections of the cerebral cortex-I". The albino rat. B. Structure of the cortical areas. *J. Comp. Neurol.* 84, 273-323, 1946.
33. Kristiansen, K. and Curtois, G. "Rhythmic electrical activity from isolated cerebral cortex", *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1, 265-272, 1949.
34. Krnjevic, K. and Phillis, J.W. "Iontophoretic studies of neurones in the mammalian cerebral cortex", *J. Physiol. (London)* 165: 274-304, 1963.
35. Krnjevic, K. and Reinhardt, W. "Choline excites cortical neurons" *Science* 206, 1321-1324, 1979.
36. Lamour, Y., Dutar, P. and Jobert A. "Excitatory effect of acetylcholine on different types of neurons in the first somatosensory neocortex of the rat: Laminar distribution and pharmacological characteristics", *Neuroscience* 7: 1483-1494, 1982.
37. Loskota, W. J., Lomax, P. Y Rich, J. I., "The gerbil as a model for the study of the epilepsies. Seizures patterns and ontogenesis", *Epilepsia*, 15: 109-119, 1974.
38. Lundh, N., "Effect of 4-aminopyridine in neuromuscular transmission", *Brain Res.* 153: 307-318, 1978.

39. Lynch, G., Matthews, D.A., Mosco, S., Parks, T. and Cotman, I. "Induced acetylcholinesterase-rich layer in rat dentate gyrus following entorhinal lesions", *Brain Res.* 42, 311-318, 1971.
40. Matsumoto, H. y Ajmone-Marsan, C., "Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: interictal manifestations. *Exp. Neurol.* 9: 286-304, 1964.
41. Matsumoto, H., Ayala, G. F. y Gumnit, R. J., "Neuronal behavior and triggering mechanisms in cortical epileptic focus", *J. Neurophysiol.* 32: 688-703, 1969.
42. McNamara, J. O., Byrne, M. C., Dasheiff, R. M. y Fitz, J. C., "The kindling model of epilepsy: a review", *Prog. Neurobiol.* 15: 139-159, 1980.
43. McNamara, J.O. "Muscarinic cholinergic receptors participate in the kindling model of epilepsy", *Brain Res.* 154: 415-420, 1978.
44. Meza-Ruiz, G, y Tapia, R., "3-H-GABA release in synaptosomal fractions after intracranial administration of ruthenium red". *Brain Res.* 154: 163-166, 1978.
45. Morrell, F.A., Hitri, T.J., Hoepfner, D., Bergen, E. Kessler. and S. Fleming. "Increase in muscarinic binding sites at primary and secondary foci after hippocampal kindling", *Soc. Neurosci.* 2: 11, 1980.
46. Naquet, R. y Meldrum, B. S., "Photogenic seizures in baboon". Págs. 373-406. En: *Experimental models of epilepsy*. D.P. Purpura, J. K. Penry, D. Tower, D. M. Woodbury y Walter, R. (Eds). Nueva York, Raven Press, 1972.
47. Pasantés-Morales, H. y Arzate, M. E., "Effect of taurine on seizures induced by 4-aminopyridine", *J. Neurosci. Res.* 6: 465-474, 1981.
48. Prince, D. A., "The depolarization shift -epileptic- neurons", *Exp. Neurol.* 21: 467-485, 1968.
49. Prince, D. A., "Electrophysiology of -epileptic- neurons spike generation", *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 26: 476-487, 1969.
50. Prince, D. A., "Topical convulsant drugs and metabolic antagonists", págs. 51-83. En: *Experimental models of epilepsy*. D. P. Purpura, J. K. Tower, D. Woodbury, Y. R. Walter, (Eds.), Nueva York, Raven Press, 1972.
51. Prince, D. A., "Neurophysiology of epilepsy", *Ann. Rev. Neurosci.* 1: 395-415, 1978.

52. Purpura, D. P. y González-Monteagudo, O., "Acute effects of methoxy pyridine on hippocampal end-blade neurons: an experimental study of special pathology in the cerebral cortex", *J. Neurophatol. Exp. Neurol.* 19: 421-432, 1960.
53. Racine, R.J. "Modification of seizure activity by electrical stimulation II. Motor seizure. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 32: 281-294, 1972.
54. Randic, M., Siminoff, R. and Straughan, D.W. "Acetylcholine depression of cortical neurons" *Exp. Neurol.* 9, 236-242, 1964.
55. Ribak, C. E., Harris, A. B., Vaughn, J. E. y Roberts, E., "Inhibitory, GABAergic nerve terminals decrease at sites of focal epilepsy", *Science* 205: 211-214, 1979.
56. Rosenblueth, A. y Cannon, W. B., "Cortical responses to electrical stimulation", *Amer. J. Physiol.* 135: 690-741, 1942.
57. Schwartzkroin, P. A. y Wyler, A. R., "Mechanisms underlying epileptiform burst discharge", *Ann. Neurol.* 7: 95-107, 1980.
58. Schwartzkroin, P. A., "Characteristics of CA1 neurons recorded intracellularly in the hippocampal in vitro slice preparation", *Brain Res.* 85: 423-436, 1975.
59. Solís, H., Jurado, J. L. y Fernández-Guardiola, A., "La acción de la butiramina sobre el desarrollo del kindling y el kindling amigdalino ya establecido en el gato". Págs. 83-94. En: *Neurobiología Simposium Internacional*. M. Velasco Suárez y F. Escobedo Rios (Eds.). Edit. Progreso, México. 1978.
60. Solís, H., Meza, E. and Bravo J. "Kindling in the rat somatosensory cortex induces changes in neuronal responsiveness to acetylcholine" *Neurosci. Abstr.* 12, 69, 1986.
61. Swinyard, A. E., "Electrically induced convulsions", Págs. 347-372. En: *Experimental models of epilepsy*. D. P. Purpura, J. K. Penry, D. Tower, I. M. Woodbury y R. Walter (Eds). Nueva York, Raven Press, 1972.
62. Tanaka, T., Kaijima, M., Daita, G., Ohgami, S., Yonemasu, Y y Richie, D., "Electroclinical features of kainic acid-induced status epilepticus in freely moving cats. Microinjection into the dorsal hippocampus", *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 54: 288-300, 1982.
63. Tapia, R., Meza-Ruiz, G., Durán, L. y Drucker-Colín, R. R., "Convulsions or flaccid paralysis induced by ruthenium red depending on route of administration", *Brain Res.* 116: 101-109, 1976.
64. Velasco, M., Velasco, F., Estrada, F. y Olvera, A., "Alumina cream-induced focal motor epilepsy in cats. I. Lesion size and temporal course", *Epilepsia* 14:3, 1973.

65. Wada, J. A. y Sato, M., "Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amigdala in cats", *Neurol.* 24: 565-574, 1974.
66. Wahlstrom, G., "Estimation of brain sensitivity to the convulsive effects of choline and changes induced by chronic barbital treatments" *Eur. J. Pharmacol.* 51(31): 219-227, 1978.
67. Walker, A. E. y Johnson, H. C., "Convulsive factors in commercial penicillin", *Arch. Surg.* 50: 69-73, 1945.
68. Wasterlain, C.G. and Jonec, V., "Cholinergic Kindling of the amigdala requires the activation of muscarinic receptor" *Exp. Neurol.* 73, 595-599, 1981.
69. Wasterlain, C.G. and Jonec, V. "Cholinergic kindling: transsynaptic generation of chronic seizures. *Life Sci.* 26: 387-391, 1980.
70. Wise, S.P. and Jones, E. G. "Cell of origin and terminal distribution of descending projections of the rat somatic sensory cortex" *J. comp. Neurol.* 175, 129-158, 1977.
71. Vosu, H. and Wise, R. A., "Cholinergic seizure kindling in the rat: comparison of caudate, amygdala and hippocampus. *Behav. Biol.* 13: 491-495, 1975.