

27
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Ciencias

Modificación de las Crisis Convulsivas Inducidas por
Pentilentetrazol (Ptz) o Kindling Amigdalino en gatos
con un Granuloma Crónico en Amígdala Cerebral

T E S I S

Que para obtener el título de

B I O L O G A

p r e s e n t a:

MINERVA EDITH CALVILLO VELASCO

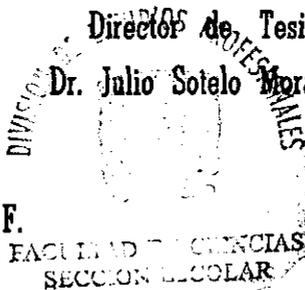


FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

México, D. F.

Director de Tesis:

Dr. Julio Sotelo Morales



1998

TESIS CON
FALTA DE ORICEN

26 05 93



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrin Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: Modificación de las crisis convulsivas inducidas por Pentilentetrazol (PTZ) o Kindling amigdalino en gatos con un granuloma crónico en amígdala cerebral.

realizado por Minerva Edith Calvillo Velasco

con número de cuenta 7644296-0 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dr. Julio Sotelo Morales *Julio Sotelo*

Propietario Dr. Ignacio Camacho Arroyo *J. M. Arroyo*

Propietario Biol. Juan Carlos Zamora Cunningham *J. C. Zamora*

Suplente M. en C. Patricia Rivas Manzano *Patricia Rivas*

Suplente Dra. Marcela Esperanza Aguilar Morales *Marcela Aguilar*

Consejo Departamental de Biología

Alejandro Martínez Mena
M. EN C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA

DEPARTAMENTO
DE BIOLOGÍA

DEDICATORIAS

A MI MADRE:

POR TU EJEMPLO, DE ENTEREZA, DIGNIDAD Y SUPERACIÓN; POR ENZEÑARNOS EL CAMINO DEL ÉXITO.

ADEMÁS DE QUE EN LA VIDA NO HAY META INALCANZABLE.

A MI PADRE:

SIN SER CIENTÍFICO, ME ENZEÑASTE EL CAMINO DE LA CIENCIA,

POR TU NOBLE CORAZÓN Y POR LOS GRATOS MOMENTOS DE CONVIVENCIA.

GRACIAS A LOS DOS, LOS QUIERO MUCHO.

A MIS HERMANOS, CON MUCHO CARIÑO. GRACIAS POR SU TOLERANCIA.
Y, POR SUPUESTO A SUS RESPECTIVAS PAREJAS...

ALEJANDRO FAVELA HASTA...

NAYELI CASTRO.

A MIS HERMOSOS SOBRINOS:

RODRIGO HASTA..

JOSÉ FERNANDO.

A MI ESPOSO:

LUIS CARLOS, MI COMPAÑERO, PORQUE DESDE HACE 17 AÑOS ERES PARTE DE
MI VIDA.

POR TU AMOR Y COMPRENSIÓN Y, PRINCIPALMENTE POR TU INFINITA PACIENCIA.

TE AMO.

A DON CARLOS.

DONDE QUIERA QUE ESTÉ...

A LOS QUE FUERON EL ORIGEN Y LAS BASES DE ESTE CAMINO, PRINCIPALMENTE
AL BIÓLOGO JOAQUIN MANJARREZ MARMOLEJO, POR SU INCONDICIONAL
AMISTAD.

¡ NUNCA ES DEMASIADO TARDE COMPAÑERO ! LO LOGRAMOS.

A LOS DEPARTAMENTOS DE FOTOGRAFÍA Y DIBUJO DEL INSTITUTO EN FORMA
ESPECIAL A MA. EUGENIA GUERRERO.

A LOS FÍSICOS CON QUIENES PASE MOMENTOS AGRADABLES:

MATY, RENE

ELENA, PEDRO

VERÓNICA, ALBERTO

Y TODOS LOS DEMÁS...

Y, FINALMENTE AL JURADO DE ESTE TRABAJO:

DR. JULIO SOTELO MORALES

DR. IGNACIO CAMACHO ARROYO

BIÓL. JUAN CARLOS ZAMORA CUNNINGHAM

M. en C. PATRICIA RIVAS MANZANO.

DRA. MARCELA ESPERANZA AGUILAR MORALES

Esta tesis fue realizada en el laboratorio de Neuroinmunología de la Unidad de Investigaciones del Sistema Nervioso, con la colaboración del laboratorio de Epilepsia Experimental de la Unidad de Investigaciones Cerebrales del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	
Definición de epilepsia.....	3
Definición de granuloma.....	3
Clasificación de las crisis epilépticas.....	5
Modelos animales de epilepsia.....	7
Pentilentetrazol (PTZ).....	10
Kindling.....	11
OBJETIVOS	13
HIPÓTESIS	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
RESULTADOS	
Histología.....	20
Tomografía Axial Computarizada (TAC) e Imagen de Resonancia Magnética (IRM).....	23
Tamaño del granuloma.....	24
Pentilentetrazol (PTZ). Latencia a las Crisis Parciales (CP) y Crisis Generalizadas (CG).....	25
Kindling. Latencia a la primera crisis.....	27
Duración de la Postdescarga (PD).....	28
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIÓN	33
REFERENCIAS	34

RESUMEN

La epilepsia sintomática frecuentemente ocurre en sujetos con un granuloma crónico en parénquima cerebral, siendo una de las causas más frecuentes de epilepsia de inicio tardío. Mucho de lo que se sabe acerca de la epilepsia, se ha derivado directa o indirectamente de los modelos animales (Fisher, R.S., 1989). La actividad convulsiva, existe en forma potencial tanto en animales como en el hombre (Ajmone-Marsan and Ralston, 1957; Mirski, 1986; Bircher, 1962); la estimulación eléctrica espaciada y repetida de ciertos sitios específicos del cerebro provoca la inducción de crisis convulsivas generalizadas en animales (Goddard et al., 1969); el Pentilentetrazol (PTZ), actúa como una sustancia capaz de generar la actividad convulsiva. En este trabajo, se indujo la formación de un granuloma en parénquima cerebral similar al que se observa en infecciones cerebrales provocadas por parásitos como en la Neurocisticercosis (NCC), mediante la microinyección de silicatos de aluminio (Kaolin) o magnesio (Talco). Se eligieron los núcleos amigdalinos por la gran susceptibilidad de estas estructuras para presentar actividad epiléptica. Se utilizaron 36 gatos con un peso promedio de 3.5 Kg que se separaron en dos grupos: a) control sin granuloma (n=11) y b) experimental con granuloma, de Talco (n=15) o de Kaolin (n=10). Se implantaron esterotáxicamente electrodos bipolares concéntricos en ambas amígdalas y en la corteza motora de los animales de ambos grupos y se registró su actividad electroencefalográfica (EEG) mensualmente durante un año. Al término de este tiempo, se aplicaron dosis crecientes de múltiplos de 3 mg/Kg de PTZ por vía intraperitoneal (IP) hasta inducir Crisis Parciales (CP) y Crisis Generalizadas (CG). Una vez determinado el umbral para las crisis inducidas por PTZ, después de un tiempo de reposo, los animales se sometieron a estimulación eléctrica según el modelo del Kindling hasta alcanzar las crisis convulsivas (Goddard, et al, 1969); se midió la latencia a la primera crisis y la duración de la

potsdescarga. Una vez establecido el kindling los animales se sacrificaron por perfusión intracardiaca, y se diseccionó el cerebro para realizar estudios de Tomografía y Resonancia Magnética que permitieran la localización e indentificación del granuloma. Para reconocer y describir el granuloma se procesaron los cerebros mediante las técnicas de Hematoxilina-Eosina, Tricrómica de Masson, Holzer y Kiüver-Barrera y determinación de proteína glial fibrilar ácida. Durante el registro EEG mensual no hubo diferencias significativas entre los animales controles y los experimentales. El umbral convulsivo de las CP por PTZ fue menor en los gatos con granuloma (Kaolin y Talco) 13.9 ± 1.0 mg, comparados con los controles 21.8 ± 1.9 mg ($P < 0.01$). El umbral para las CG fue similar en el grupo control 30.8 ± 1.1 mg como en el experimental 32.0 ± 2.0 mg. Al realizar la estimulación eléctrica diaria, los resultados que obtuvimos fueron los siguientes: el desarrollo del kindling en los animales con granuloma se presentó con un retraso significativo de 31.3 ± 5.0 días en la primera CG en comparación con la observada en el grupo control 17.4 ± 1.3 días ($P < 0.01$). Estos resultados indican que una lesión granulomatosa en amígdala cerebral facilita la generación y propagación de las CP, mientras que otros componentes de las crisis inducidas por PTZ no son alterados. Por otro lado, un granuloma localizado en un sitio epiletogénico inicialmente puede retrasar la aparición de las crisis evocadas en el área ipsilateral como contralateral pero una vez establecidas la crisis, éstas son más intensas.

INTRODUCCIÓN

Definición de Epilepsia

Etimológicamente, la palabra **Epilepsia** significa: "ser sobrecogido bruscamente". En 1861, Johns Hughlins Jackson, uno de los fundadores de la Neurología moderna, describió con meticulosidad la ahora llamada epilepsia jacksoniana, la cual se caracteriza por presentar convulsiones recurrentes, de carácter intermitente, repentino, y descarga excesiva de neuronas de la corteza cerebral. En 1973, la Liga Internacional contra la Epilepsia y la Organización Mundial de la Salud define a la epilepsia como " una afección crónica de etiología diversa, caracterizada por crisis recurrentes, debida a una descarga excesiva de las neuronas cerebrales (crisis epiléticas), asociadas eventualmente con diversas manifestaciones clínicas y paraclínicas" (Rubio-Donnadieu, F., 1986). Es uno de los trastornos neurológicos más frecuentes e intrínsecos al cerebro desencadenado ya sea por su tendencia hereditaria o por daño previo, volviendo a una porción del cerebro inestable eléctricamente. En los individuos que la padecen a menudo, es la única manifestación de enfermedad que por lo demás no es evidente, pero que persisten durante toda la vida y obliga a cuidados médicos regulares. Se estima que las epilepsias afectan entre el 0.5% al 2% de la población y pueden ocurrir a cualquier edad. Cada episodio de la disfunción neurológica es considerada como una crisis. Las crisis convulsivas se pueden manifestar como alteraciones motoras o cambios en la función neurológica; por ejemplo, por eventos emocionales, cognocitivos o sensoriales (Adams and Victor, 1993).

Definición de Granuloma

Los granulomas son reacciones celulares focalizadas contra materiales que son retenidos en los tejidos, con frecuencia por períodos prolongados de tiempo (Scott, P.

and Sher, A., 1993). Son respuestas inflamatorias complejas a menudo clasificadas como granulomas de tipo de cuerpo extraño o de hipersensibilidad y clasificados como inmunológicos y no inmunológico (Tabla 1). Primeramente, se forma de macrófagos y fibroblastos, las células que lo constituyen pueden estar en diferentes estados de maduración. El patrón de la acumulación de los monocitos depende del agente y del tipo de infección. (Turk, J.L., 1992; Robbins and Kumar, 1985).

Tabla 1.- Clasificación de los granulomas

• Inmunológicos	• No Inmunológicos
Tuberculosis	-No Tóxicos:
Lepra	Partículas de carbón
Sífilis	Metales no tóxicos (Fe)
Esquisotomiasis	-Tóxicos:
Sarcoidosis	Sílice
Zirconio	Talco
Berilio	Asbesto
	Activación de C3
	Kaolin
	Hidróxido de aluminio

Cuando un parásito se aloja en parénquima cerebral, por ejemplo como en la Neurocisticercosis (NCC) un cisticerco, cambios histopatológicos varían desde una inflamación leve hasta una reacción intensa caracterizada por foci múltiples de linfocitos, células plasmáticas y astrogliosis, eosinófilos, infiltrado perivascular y edema, más tarde se forma una cápsula delgada de tejido fibroso rodeando al parásito (Escobar, A., 1983). Posteriormente, esta infección induce la formación del granuloma compuesto de astrogliosis y tejido fibroso éste, subsecuentemente llega a mineralizarse con depósitos de calcio; esta calcificación sustituye al granuloma, en cuya zona que lo limita no hay necrosis, edema, ni cambios vasculares que afecten al tejido vecino, cuyo signo neurológico más importante son las crisis parciales o epilepsia de inicio tardío.

El proceso de calcificación puede tomar varios años y cada uno de estos estados pueden ser identificados por estudios de neuroimagen (Sotelo, J., 1984).

Si se considera que la alteración más epileptógena en la NCC es la localización de un granuloma parenquimatoso, mientras más cortical o cercano a la corteza se encuentre, más posibilidades tendrá éste de constituir un foco irritativo, es decir mientras más cercano se encuentre en áreas motoras, sensitivas o límbicas, con mayor probabilidad originará focos anormales de descarga neuronal (Sotelo, J., 1984).

Clasificación de las crisis epilépticas

La clasificación conveniente de los tipos de crisis es importante para el diagnóstico apropiado de la epilepsia, para la evaluación pronóstica y para la selección de la terapia. La Clasificación Internacional de las Crisis Epilépticas, se hace con base al patrón electroencefalográfico (EEG) que las caracteriza, ictal (la crisis) e interictal (entre la crisis) y las divide en dos tipos: el primero categoriza a la epilepsia de acuerdo al tipo de crisis, estas tienen la desventaja de que, tipos similares de ataques pueden ocurrir en diferentes condiciones y el segundo tipo es de acuerdo a su etiología, sin ser relevante el sustrato anatómico y las rutas de expresión, existiendo otras clasificaciones (Dreifuss, 1981; Fisher, 1989; Shorvon, 1986).

Para el clínico, la importancia está en tener una correlación con la patología subyacente, el pronóstico y con la sensibilidad a un medicamento particular o terapia quirúrgica. Para el investigador, la clasificación sirve como un recordatorio, no para inferir conclusiones excesivamente generales acerca de los múltiples tipos clínicos de epilepsia a partir de modelos animales limitados (Fisher, 1991).

Las crisis se clasifican dependiendo de su sitio de inicio en parcial (focal) o generalizada. Las parciales se dividen en simples (sin pérdida de conciencia) y complejas (con pérdida o entorpecimiento de conciencia). A su vez las generalizadas se dividen en ausencias

(pequeño mal) que pueden presentarse con una breve fijación al vacío o con breves automatismos más actividades motoras como sacudidas de párpados; tónico-clónicas (gran mal) con caídas, rigidez y sacudidas, acompañadas de pérdida de conciencia y a veces con incontinencia urinaria, existiendo además otro subtipo de crisis generalizadas, mioclónicas, tónicas, clónicas, atónicas y sin clasificar (Fisher, 1991) Tabla 2.

Las manifestaciones de una crisis pueden depender en parte de la edad y estado conductual del sujeto (privación de sueño, alerta, actividad) y la localización cerebral donde ocurre la anomalía eléctrica. El tipo más común de crisis en humanos adultos se origina en las estructuras límbicas o lóbulos temporales (Gloor et al, 1982), éstas crisis son generalmente precedidas por auras, malestar visceral, y vértigo. Una clasificación definitiva de las crisis se hará al parecer, cuando se entienda mejor su fisiopatología (Dreifuss, 1981).

Tabla 2.- Clasificación de las crisis epilépticas.

<p>I.- Crisis parcial (focal, local)</p> <p>A. Parcial simple</p> <p>B. Parcial compleja</p> <p>C. Crisis parcial c/generalización secundaria</p> <p>II. Crisis generalizada</p> <p>A. Crisis de ausencia</p> <p>B. Crisis mioclónica</p> <p>C. Crisis clónica</p> <p>D. Crisis tónica</p> <p>E. Crisis tónico-clónica</p> <p>F. Crisis atónica</p> <p>III. Crisis epilépticas sin clasificar</p> <p>Tomado de Shorvon, 1986</p>

Modelos animales de epilepsia

Hasta la fecha, la principal restricción que ha dificultado el conocimiento de los mecanismos intrínsecos del origen y difusión de las crisis epilépticas en el cerebro son las consideraciones éticas para experimentar en humanos con epilepsia. Dada la limitante anterior, ha sido necesario el empleo de modelos experimentales que simulen algunas de las características clínicas y conductuales que se presentan normalmente en la patología epiléptica de humanos (Engel, 1991). Los modelos experimentales de epilepsia son necesarios para: 1) estudiar la fisiopatología de las epilepsias o crisis epilépticas, 2) estudiar los mecanismos de acción de fármacos antiepilépticos utilizados en la clínica, 3) estudiar las alteraciones en la eficacia de los fármacos durante el tratamiento crónico, 4) estudiar los mecanismos de resistencia de las crisis a los

fármacos y 5) la búsqueda de nuevos fármacos antiepilépticos (Löscher, 1993). Con el uso de estos modelos se pueden estudiar algunos mecanismos básicos de las crisis. La adecuada elección del modelo requiere la consideración de varios factores como son: la naturaleza e identificación de los sistemas neuronales que producen epilepsia, porqué y cómo se inician y difunden las crisis, qué tipos de patologías dan origen a las crisis, si estas causan daño al cerebro y el mecanismo de acción de los anticonvulsivantes. Con base en estos factores y a las variables a estudiar se debe elegir correctamente el tipo de crisis que se requiere inducir y la utilidad del modelo para contestar cualquiera de estas preguntas (Fisher, 1989, 1991).

Son pocas las especies animales que presentan crisis en forma espontánea (perros, ratas, ratones, hamsters), sin embargo estos no se utilizan frecuentemente en la prueba de fármacos anticonvulsivantes dado que son pocos los laboratorios en donde se pueden adquirir dichas especies ya que son cepas escrupulosamente cuidadas y seleccionadas, además de que las crisis no se pueden inducir en cualquier tiempo, su frecuencia es baja y no se han demostrado de manera conveniente las similitudes fisiopatológicas entre los modelos y la condición epiléptica en humanos (Engel, 1992).

Los modelos experimentales de crisis están basados en la aplicación de sustancias químicas (Penicilina, Ácido Kaínico, Bicuculina, Pentilentetrazol, Pilocarpina, etc.), estímulos eléctricos (Electrochoque, Kindling) y sensoriales (Fotoestimulación, ruido) directamente al tejido cerebral, por vía sistémica y estimulación sensorial (Tabla 3). Todos estos tipos de estimulación dan origen a manifestaciones conductuales y electrofisiológicas que simulan a las crisis epilépticas que se observan en humanos (Fisher, 1989; 1991; De Deyn et al, 1992).

Tabla 3.- Modelos animales de las crisis epilépticas

<ul style="list-style-type: none">• Parcial simple, aguda<ul style="list-style-type: none">-Convulsivantes tópicos: Penicilina, Bicuculina, Picrotoxina, etc.-Estimulación eléctrica aguda.-Síndrome de la abstinencia al GABA.-Rebanadas de corteza cerebral. • Parcial simple, crónica<ul style="list-style-type: none">-Metales en corteza: Cobalto, Tungsteno, Hidróxido de aluminio, Zinc, etc.-Daño por congelación.-Inyección de Gangliósidos.-Epileptogénesis focal sistémica. • Tónico-clónica generalizada.<ul style="list-style-type: none">-Genética: mandriles fotosensibles, crisis audiogénicas en ratón, ratas, perros epilépticos.-Electrochoque.-Convulsivantes químicos: Pentilentetrazol, Penicilina, Bicuculina, Picrotoxina, etc.-Trastornos metabólicos: hipoxia, hipoglicemia, uremia, temperaturas altas, abstinencia de drogas. • Parcial compleja<ul style="list-style-type: none">-Ácido Káínico.-Inyección en el área tempestas.-Kindling. • Ausencias generalizadas<ul style="list-style-type: none">-Estimulación talámica.-Focos corticales bilaterales. • Estatus epiléptico<ul style="list-style-type: none">-Litio-Pilocarpina.-Cobalto-Homocisteína	<p>Tomado de Fisher, 1989.</p>
---	--------------------------------

Pentilentetrazol (PTZ)

El 6,7,8,9-tetrahidro-5H-tetrazol(1,5-a)azepina, también llamado Cardiazol o Metrazol o Pentilentetrazol (PTZ), es un derivado del tetrazol con acción convulsivante utilizado desde la década de 1940 (Richards and Everet, 1944).

A nivel molecular se ha reportado que el PTZ se une al sitio de la Picrotoxina del complejo receptor GABA_A/Benzodiazepina (Ramanjaneyulu and Ticku, 1984).

Concentraciones milimolares de PTZ producen despolarizaciones paroxísticas (Speckman and Caspers, 1973; Fowler and Partridge, 1984) y alteran la conductancia del ión cloruro (Prichard, 1971; Pellmar and Wilson, 1977) en neuronas de invertebrados.

DeDeyn y McDonal en 1989, encontraron que se inhibe la conductancia del ión cloruro en cultivo de neuronas de médula espinal de ratón. También el PTZ se ha utilizado como modelo de kindling químico (Pinel and Cheung, 1977; Grecksch et al, 1990).

El PTZ se puede administrar por vía intravenosa (IV), subcutánea (SC) e intraperitoneal (IP) a dosis que van desde 50-100 mg/kg en ratones o ratas. Sus efectos se pueden observar a los 30 minutos después de haberlo administrado, su vida media es de aproximadamente de 3.8 horas manteniéndose constante la concentración intracerebral hasta 2 horas después de la primera crisis, 24 horas después de su administración las concentraciones cerebrales han disminuido en forma significativa y son tan pequeñas que los cambios que se producen no se asocian a la actividad del PTZ (Halonen et al, 1992). La dosis convulsivante 97 (DC₉₇) del PTZ, es decir la dosis a la que convulsionan el 97% de los animales es de 85 mg/kg en ratones y de 70 mg/kg en ratas administrados por vía IP o SC y de 27mg/kg en gatos por vía IP. Conductualmente el PTZ induce por orden de aparición: a) sacudidas mioclónicas, b) mioclonías de miembros anteriores y posteriores y c) crisis generalizadas tónico-clónicas con pérdida de equilibrio. En el EEG durante las crisis se observan espigas punta-onda y poliespigas (Fisher, 1991; Löscher

et al, 1991, 1993; De Deyn et al, 1992). El origen de esta actividad no se conoce con certeza pero se ha propuesto que se inicia en sitios subcorticales (Velasco et al, 1975; Mirski and Ferrendelli, 1986; 1987).

Kindling

El Kindling es un fenómeno por el cual, estímulos eléctricos repetidos en varias partes del cerebro, dan como resultado un incremento en la excitabilidad cerebral. Este fenómeno fue desarrollado y elaborado por Delgado y Sevillaño (1961) y por Goddard (1969). Ha llegado a ser uno de los modelos más usados, para observar los cambios a largo plazo de la plasticidad cerebral. Se cree que esta plasticidad no sólo se manifiesta durante la epileptogénesis sino también durante el aprendizaje y la memoria (Goddard, G. V. and Douglas, R. M., 1975; Majkowski, J., 1986).

El Kindling se inicio por la estimulación de la amígdala cerebral, pero también otras regiones del cerebro anterior pueden ser estimuladas (Goddard, 1969). Para realizar este modelo, se implantan electrodos bipolares concéntricos en amígdala de especies animales que van desde ranas hasta primates. Después de la recuperación, trenes de estímulos eléctricos se aplican diariamente, a través de los electrodos, usando los parámetros aceptados internacionalmente. Después de varios días de estimulación se comienza a inducir postdescargas eléctricas, las cuales llegan a ser progresivamente más complejas y prolongadas con cada estímulo; si se continua por algunas semanas, los roedores exhiben crisis epilépticas espontáneas aún en ausencia del estímulo eléctrico; posiblemente, la excitabilidad cerebral en este punto ha alcanzado un estado en el cual la actividad aferente puede disparar postdescargas epileptiformes.

Racine (1972), ha clasificado la respuesta conductual del kindling de roedores en cinco estados conductuales: 1) clonus facial; 2) clonus facial y movimiento rítmico de la cabeza; 3) clonus facial, movimiento rítmico de la cabeza y clonus de miembros delanteros; 4)

clonus facial, movimientos rítmicos de la cabeza, clonus de miembros delanteros y sacudidas; 5) clonus facial, movimientos rítmicos de la cabeza, clonus de miembros delanteros, sacudidas y caída. Por otro lado, Wada y Sata (1974), describieron el mismo modelo en gatos y lo clasifican en seis estados conductuales: 1) guiño facial unilateral ipsilateral al sitio de estimulación, masticación, salivación, midriasis; 2) guiño facial bilateral, olfateo fino, masticación; 3) sacudida de cabeza, inmóvilidad con manifestación de los automatismos antes mencionados; 4) giro contralateral de la cabeza con extensión tónica de los miembros anteriores, saltar, correr; 5) sacudidas clónicas generalizadas irregulares de todo el cuerpo con las patas abiertas, micción; 6) crisis convulsiva generalizada, caída con convulsiones clónico-tónico-clónicas bisincrónicas y vocalización rítmica.

Después de varias décadas de estudio, los mecanismos del kindling todavía no son muy bien entendidos. Varios estudios han mostrado interacciones transitorias entre el kindling y sistemas de neurotransmisores, incluyendo acetilcolina, norepinefrina, serotonina, glutamato, GABA y aminoácidos. Sin embargo, ninguno de ellos es consistente para explicar su mecanismo.

OBJETIVOS.-

1. Inducir la formación de un granuloma parenquimatoso, mediante la microinyección de Talco o Kaolin en la amígdala central de gatos.
2. Definir el efecto de un granuloma crónico sobre la aparición de crisis epileptiformes inducidas por el PTZ en gatos.
3. Observar el desarrollo del kindling amigdalino en gatos con un granuloma crónico en amígdala central pretratados con PTZ.

HIPÓTESIS

- Si la formación de un granuloma como secuela de una reacción inflamatoria crónica en cerebro de humanos genera crisis convulsivas, entonces un granuloma de Kaolin o Talco en una zona epileptógena generaran un foco epiléptico en el cerebro de gato, facilitando las crisis inducidas por PTZ y kindling.

OBJETIVOS.-

1. Inducir la formación de un granuloma parenquimatoso, mediante la microinyección de Talco o Kaolin en la amígdala central de gatos.
2. Definir el efecto de un granuloma crónico sobre la aparición de crisis epileptiformes inducidas por el PTZ en gatos.
3. Observar el desarrollo del kindling amigdalino en gatos con un granuloma crónico en amígdala central pretratados con PTZ.

HIPÓTESIS

- Si la formación de un granuloma como secuela de una reacción inflamatoria crónica en cerebro de humanos genera crisis convulsivas, entonces un granuloma de Kaolin o Talco en una zona epileptógena generaran un foco epiléptico en el cerebro de gato, facilitando las crisis inducidas por PTZ y kindling.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 gatos adultos con peso promedio de 3.5 Kg, cada animal fue puesto en jaulas individuales y alimentados con gatina y agua *ad libitum*, se separaron en un subgrupo K (n=10) los cuales recibieron 100 μ l de una suspensión de Kaolin al 50 % (silicatos de aluminio en NaCl 0.9% pH=7); el subgrupo T (n=15) que recibieron 100 μ l de una suspensión de Talco al 50 % (silicatos de magnesio en NaCl 0.9 % pH=7), inyectados mediante cirugía estereotáxica (Fig.1) en amígdala central izquierda de acuerdo a las coordenadas del atlas de Snyder y Niemer (1961): anterior= 13.5 mm; lateral= 10.0 mm y profundidad= -4.0 mm para inducirles el granuloma; y un grupo control (n=11) sin silicatos. Se hicieron registros mensuales durante un año para observar si presentaban crisis espontáneas; a todos los animales se les inyectaron por vía IP (Fig.2) dosis crecientes de 3 mg/kg de PTZ cada tercer día, hasta observar una Crisis Parcial (CP) y Crisis Generalizada (CG). Las dosis promedio necesarias de PTZ de cada gato fueron registradas en una tabla. Los parámetros que se midieron fueron la dosis umbral de PTZ para generar CP y CG. Para el análisis estadístico se utilizaron las pruebas de ANOVA y Tukey (Wayne, 1987). Al final de esta parte del experimento, dos gatos uno de K y otro de T fueron anestesiados con Pentobarbital sódico (30 mg/kg vía IP), y se perfundieron por vía intracardiaca con salina y formol al 4 %, se disecó el cerebro y se les realizó una Tomografía Axial Computarizada (TAC) y una Imagen de Resonancia Magnética (IRM) para localizar el granuloma; posteriormente para observar diferencias histológicas de los granulomas los cerebros se procesaron con las técnicas de Hematoxilina-Eosina, Tricrómica de Masson, Holzer y Klüver Barrera (Luna, G.L., 1960). Con el fin de ver la astrogliosis se realizó la técnica de inmunohistoquímica con peroxidasa antiperoxidasa (PAP) contra proteína glial fibrilar ácida (GFAP).

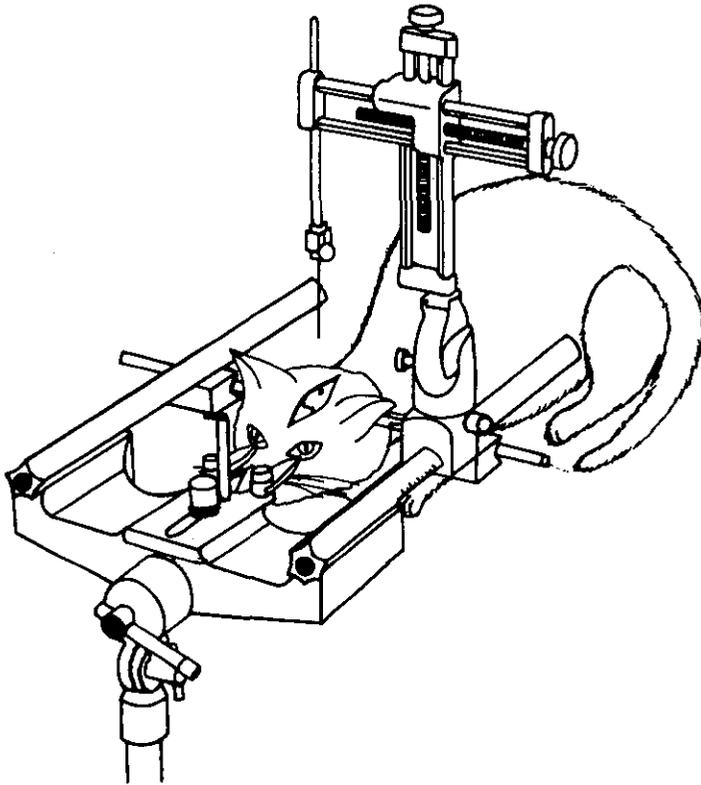


Fig. 1.- Inyección de silicatos en amígdala central, mediante coordenadas estereotáxicas (Atlas de Snyder y Niemer, 1961).

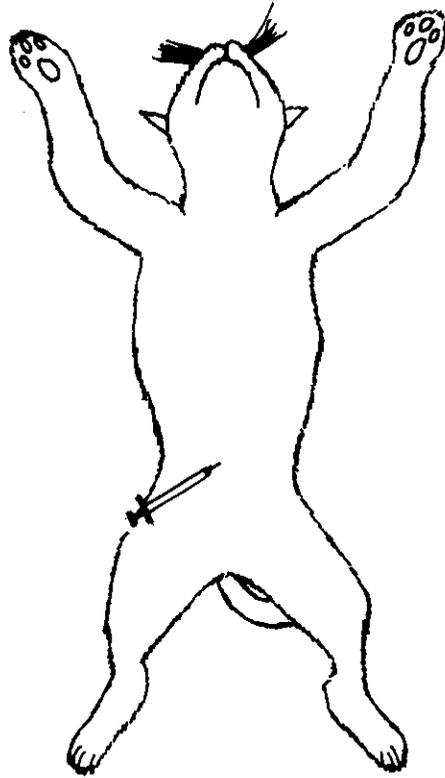


Fig. 2.- Inyección de Pentilentetrazol a los gatos por vía intraperitoneal.

Después de 3 meses de reposo, los animales del grupo control (n=11), de K (n=6) y de T (n=12) fueron anestesiados con Pentobarbital (30 mg/kg vía IV) y por cirugía estereotáxica los electrodos bipolares concéntricos de acero inoxidable cubiertos con teflón, se colocaron en amígdala central derecha e izquierda según las coordenadas del atlas de Snyder y Niemer (1961): anterior= 13.5 mm; lateral= 10.0 mm; y profundidad= 4.0 mm, y en corteza motora (Fig.3); un tornillo colocado cerca de Lambda sirvió como electrodo de referencia para el registro EEG. Los electrodos fueron soldados a un conector y fijados al cráneo con cemento acrílico dental. Después de dos semanas de reposo, cada animal fue colocado en una cámara de registro (Fig.4) donde los electrodos fueron conectados a través de cables flexibles, a un estimulador Grass-S88 o a un polígrafo Grass-780. Cinco minutos antes del registro, se estimuló la amígdala por un segundo usando un pulso cuadrado de un milisegundo de duración a una frecuencia de 60 Hz. La primera estimulación fue de 5 volts y subsecuentemente la estimulación diaria se incremento 1 volt hasta provocar una postdescarga. Después, esta estimulación umbral se aplicó en cada prueba subsecuente hasta inducir la crisis convulsiva (Goddard, et al. 1969; Wada and Sata, 1974)). El grupo con granuloma (K y T) se estimuló ipsilateral (n=9) y contralateralmente (n=9). Al final de la estimulación se analizaron los siguientes parámetros: número de estimulaciones requeridas para alcanzar la crisis generalizada (estado 6, Wada and Sata, 1974) y la duración de la postdescarga (después de 9 estimulaciones adicionales). Los parámetros fueron analizados con la prueba de ANOVA y t de Student (Wayne, 1987). Al final, todos los gatos se sacrificaron por perfusión intracardíaca con salina y formol al 4 %. Con el fin de localizar tanto al granuloma como el sitio de los electrodos, los cerebros se procesaron histológicamente. El diámetro del granuloma y la astrogliosis perilesional fueron medidas y promediados los valores.

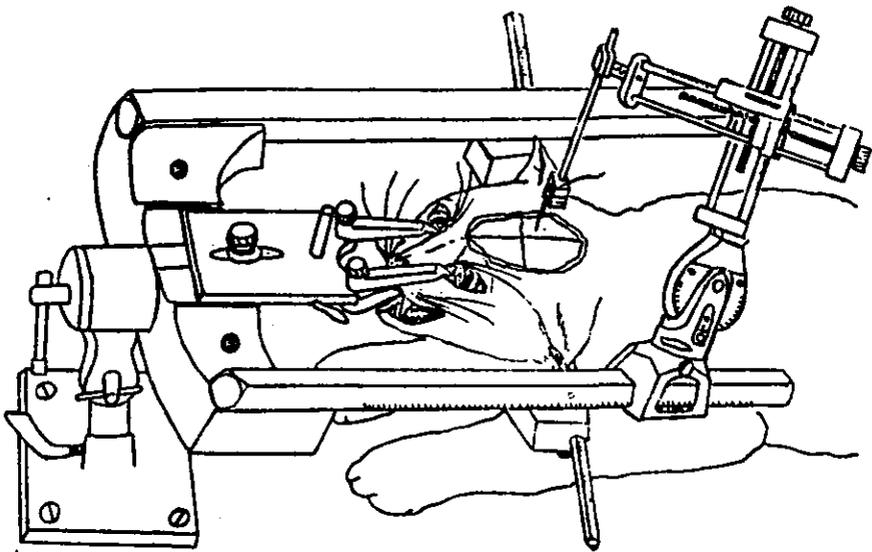


Fig. 3.- Colocación de los electrodos en amígdala central y corteza cerebral, mediante coordenadas estereotáxicas (Atlas de Snyder y Niemer, 1961).

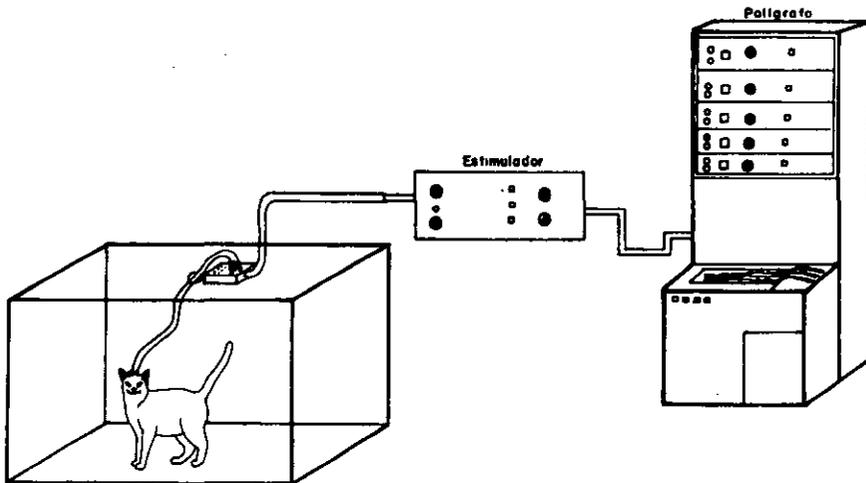


Fig. 4.- Esquema del registro electroencefalográfico mediante el polígrafo, un estimulador y la cámara donde se coloca a los gatos.

RESULTADOS

No hubo diferencias en el registro mensual durante el año que transcurrió entre la inyección de los silicatos y la inyección del PTZ.

Histología.- Se observaron algunas diferencias entre las lesiones de K y T; el granuloma inducido por K fue redondeado y compacto, relleno de macrófagos conteniendo granulos de K fagocitado en su citoplasma, el granuloma está encapsulado por colágena y tejido astroglial (Fig.5a). La lesión inducida por T mostró cavitaciones en el área donde la suspensión de los silicatos fue inyectada, y el área del granuloma está rodeado por una cápsula de colágena conteniendo algunas partículas de T y pocos macrófagos rodeando a estas partículas (Fig.5b). Se observo una fuerte positividad a GFAP en ambos grupos (Fig.5c y 5d).

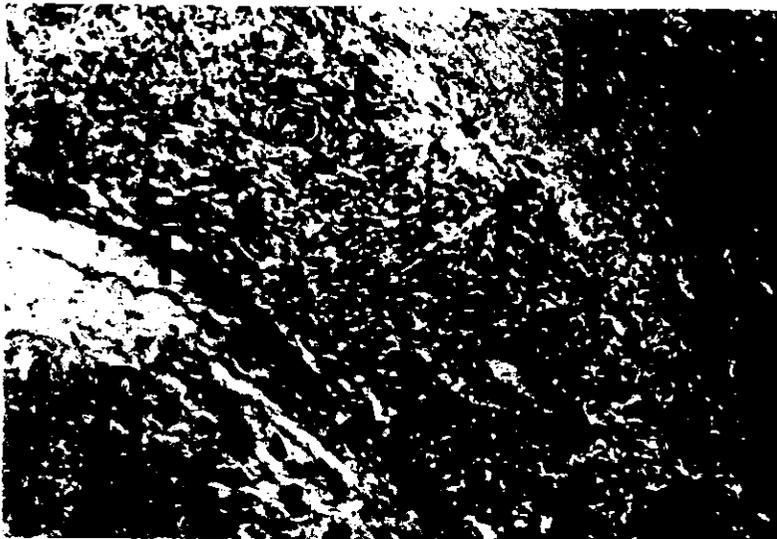


Fig. 5a.- Corte histológico de cerebro de gato con granuloma formado por la inyección de Kaolin. G, granuloma; F, fibras de colágena; ↔, astrogliosis y B, tejido normal. Aumento 10X.



Fig. 5b.- Corte histológico de cerebro de gato con la lesión formada por la inyección de Talco. C, cavidad; ↔, astrogliosis; B, partículas de Talco y A, tejido normal. Aumento 10X.



Fig. 5c. Corte de cerebro de gato con granuloma formado por Kaolin con la técnica inmunohistoquímica con PAP contra proteína glial fibrilar ácida, se muestra la reacción positiva de los astrocitos dentro y fuera del granuloma (G y flechas) 10X.

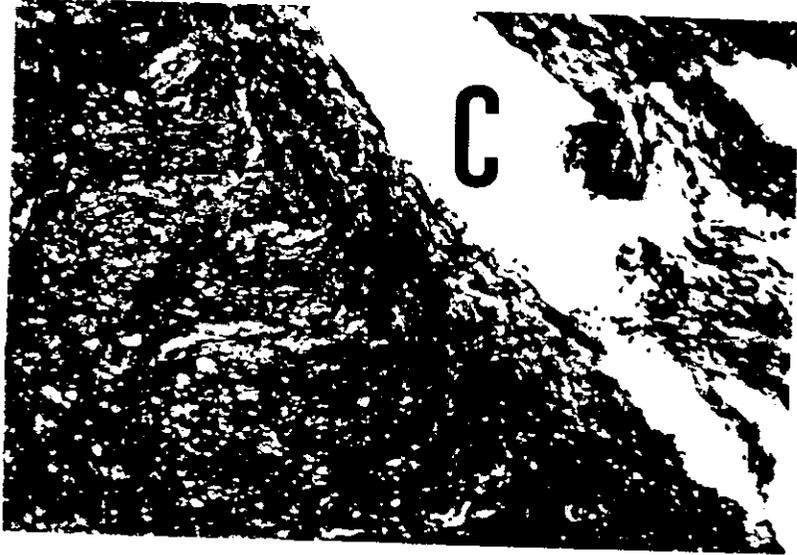


Fig.5d.- Corte de cerebro de gato con lesión formada por la inyección de Talco, se observa la reacción positiva de la proteína glial fibrilar ácida alrededor (flecha) de la zona que forma la cavidad (C)

Tomografía Axial Computarizada (TAC) e Imagen de Resonancia Magnética (IRM).- La lesión en el lóbulo temporal dió una imagen hiperdensa en la TAC (Fig.6a) y una imagen hipodensa en la IRM (Fig.6b) en los animales del subgrupo K, en los animales del subgrupo T no se observaron detalles.



Fig. 6a.- Tomografía de cerebro de gato con granuloma de K en amígdala izquierda. La flecha indica el granuloma, zona hiperdensa.



Fig. 6b.- Imagen de Resonancia magnética que muestra el granuloma formado por Kaolin dando una señal hipointensa, la flecha indica el granuloma.

Tamaño del granuloma.- Los granulomas desarrollados por K y T tuvieron variaciones en el tamaño, el diámetro promedio para el granuloma de K fue, en el punto rostral 1.2 ± 0.5 mm (14.5 mm anterior a la línea interaural), en el sitio donde se inyectaron los silicatos fue de 5.0 ± 0.6 mm (13.5 mm) y en el punto caudal fue de 1.7 ± 0.5 mm (9.5 mm anterior a la línea interaural). El área del parénquima afectada dentro del granuloma de K, comprendió el núcleo amigdalóide basal, central y lateral. Alrededor del granuloma de K se desarrolló un radio de astrogliosis de 0.5 ± 0.04 mm de grosor extendiéndose hacia el núcleo amigdalóide cortical y anterior así como hacia la estria terminalis (Fig.7). El granuloma desarrollado por T tuvo un diámetro promedio de 5.1 ± 0.5 mm en el sitio de inyección solamente y una astrogliosis de 0.6 ± 0.06 mm.

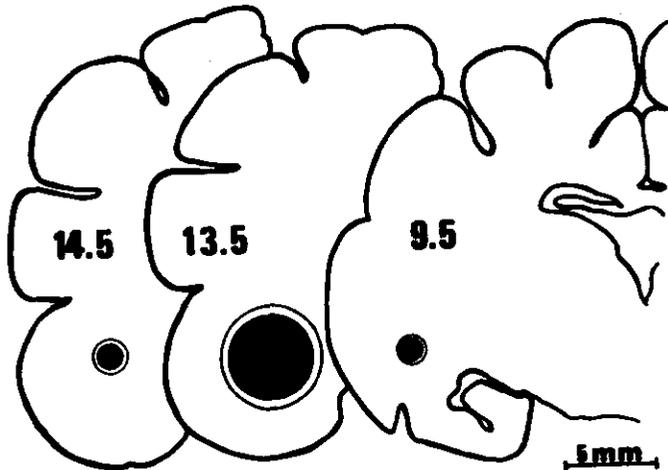
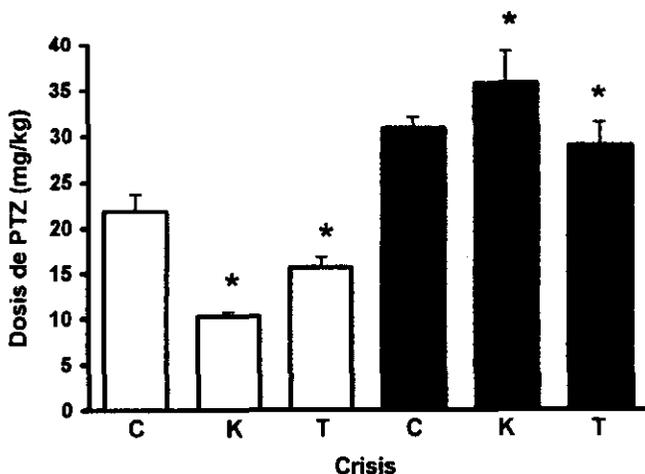


Fig. 7.- Esquema que representa el área que abarcó el granuloma de K (círculos negros) de acuerdo a las coordenadas del atlas de Snyder y Niemer (1961). El anillo alrededor del granuloma representa a la astrogliosis.

Pentilentetrazol (PTZ).- Los animales del grupo experimental (K y T), desarrollaron CP con una dosis promedio de 13.9 ± 1.0 mg, más baja que la requerida por los animales del grupo control de 21.8 ± 1.9 mg ($P < 0.01$), mientras que el desarrollo de las CG en el grupo experimental se presentó a una dosis de 32.0 ± 2.0 mg similar, a la que requirió el grupo control de 30.8 ± 1.1 mg. Cuando los resultados obtenidos en cada subgrupo de K o T se compararon independientemente con el grupo control, los animales del subgrupo K presentaron un umbral aún más bajo para las CP de 10.2 ± 0.5 mg, comparado con el subgrupo de T de 15.6 ± 1.2 mg ($P < 0.01$) Gráfica 1; el umbral para las CG fue similar en el subgrupo T de 28.9 ± 2.5 mg y del grupo control de 30.8 ± 1.1 mg. Se observan diferencias significativas, entre el subgrupo K, 35.7 ± 3.4 mg; el grupo control 30.8 ± 1.1 mg y el subgrupo de T 28.9 ± 2.5 mg ($P < 0.01$ Tukey).



Gráfica 1.- Dosis umbral de PTZ ($\bar{X} \pm e.e.$) para inducir crisis parciales (barras vacías) y crisis generalizadas (barras rayadas) en los grupos C= control, K= kaolin y T= talco. * $P < 0.01$ Tukey.

Los valores individuales para cada grupo se presentan en la Fig 8. La diferencia en la dosis promedio de PTZ entre la inducción de las CP y el desarrollo de las CG fue de 9.5 ± 5.4 mg para el grupo control y de 18.6 mg para el grupo con granuloma; en los animales de K fue de 25.5 ± 9.5 mg y de 14.0 ± 8.8 mg para el subgrupo de T, comparados con el grupo control ($P < 0.01$). Durante la aplicación del PTZ, 2 gatos de T y 3 de K se murieron en la convulsión.

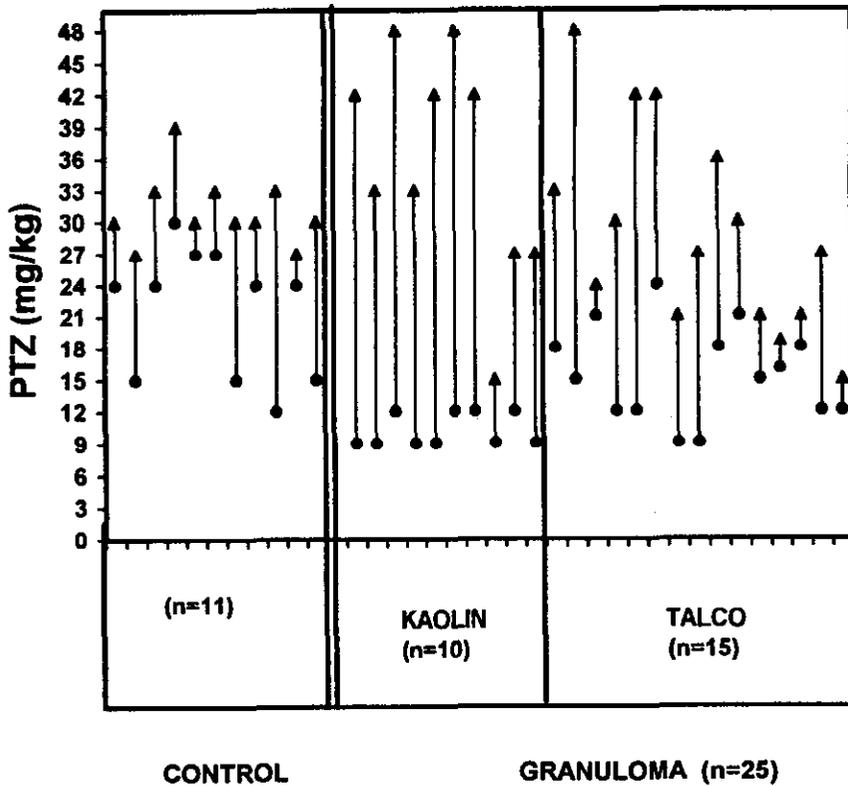
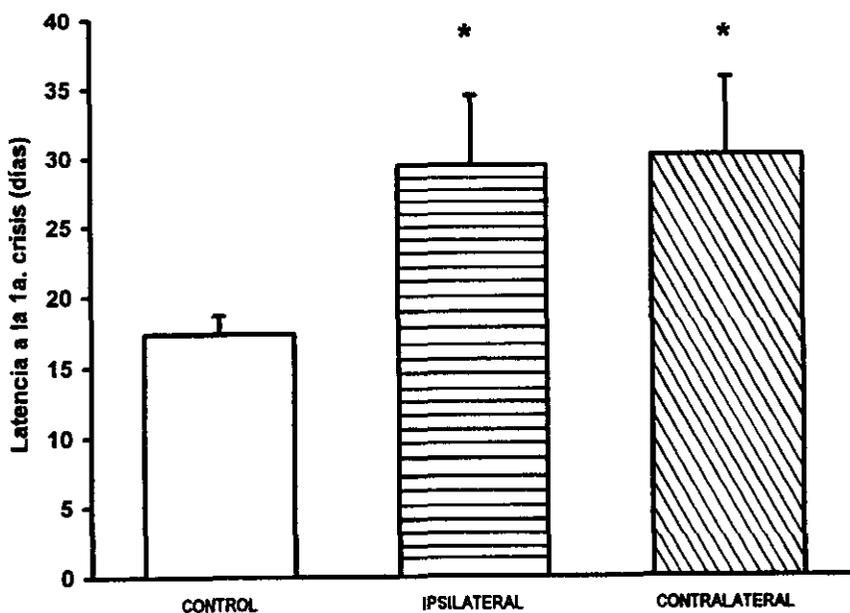


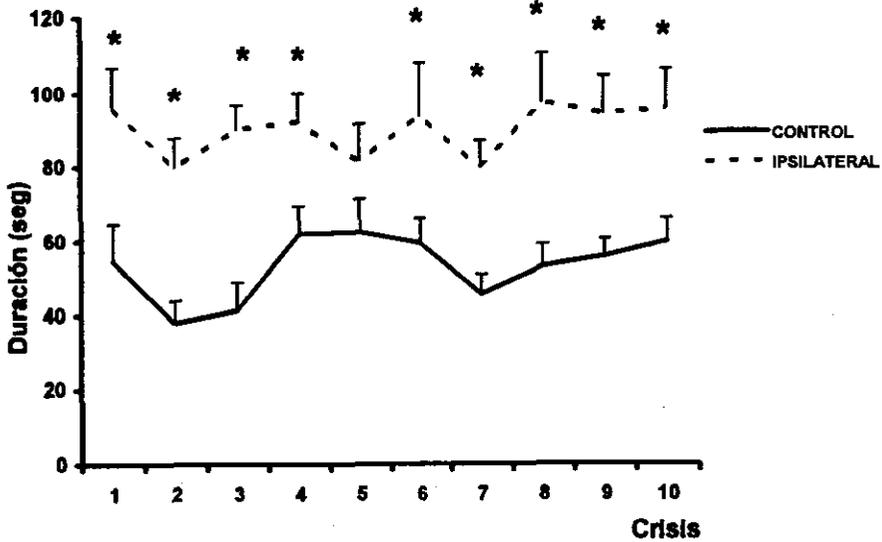
Fig. 8.- Umbral individual para las CP y las CG inducidas por PTZ (mg/kg) en gatos con granuloma crónico y sin granuloma (control).

Kindling.- Después de la estimulación diaria, el tiempo promedio requerido para provocar la primera crisis generalizada en los gatos controles (n=11) fue de 17.4 ± 1.3 días; para los animales con estímulo en la amígdala ipsilateral (n=8) fue de 29.4 ± 5.0 días y para la estimulación contralateral (n=8) fue de 30.1 ± 5.6 días con una $P < 0.01$ (Gráfica 2). Dos animales del subgrupo K fueron descartados de este análisis ya que a uno se le cayó el conector y al otro al procesarlo histológicamente no se observó el Kaolin en amígdala.



Gráfica 2.- Latencia ($\bar{X} \pm e.e.$) para la primera crisis generalizada entre los grupos con estimulación ipsilateral (29.4 ± 5 días), contralateral (30.1 ± 5.6 días) y control (17.4 ± 1.3 días); * $p < 0.01$ t de Student.

Duración de la postdescarga (PD).- Una vez generada la primera crisis, se hizo el promedio de 9 crisis más (total 10), para observar cambios en la duración de la duración de los grupos (Gráfica 3). La duración promedio de la postdescarga del grupo control fue de 53 ± 4 s; de 90.0 ± 2.2 s para el grupo con estimulación ipsilateral y de 76.4 ± 2.5 s para los animales con estímulo contralateral ($P < 0.01$).



Gráfica 3.- Esta gráfica muestra la duración ($\bar{X} \pm e.e.$) de la estimulación ipsilateral comparado con el grupo control; * $p < 0.01$ t de Student.

DISCUSIÓN

Las diferencias histológicas entre las lesiones provocadas por la inyección de K y T, parecen ser el tamaño de las partículas y la forma que se observó en los cortes de cada uno. Las partículas de K son pequeñas y fueron engullidas por los macrófagos, una astrogliosis y fibras de colágena rodean a la lesión; las partículas de T son de mayor tamaño y esto previno su ingestión y a largo plazo, estas partículas fueron rodeadas por fibroblastos y colágena. La inyección de K mostró la formación de un granuloma parecido, histológicamente, al granuloma del parénquima cerebral que permanece como secuela en algunos pacientes con NCC, después de que la respuesta inmune del hospedero destruye al parásito (Escobar, A., 1983; Medina, M.T., et al, 1990); la manifestación clínica usual de este granuloma es la epilepsia, que comunmente se expresa como CP con o sin generalización secundaria (Vázquez, V. and Sotelo, J., 1992). La lesión que provocó la inyección de T sólo mostró una cavitación la cual, semeja a una cavidad provocada por necrosis isquémica y astrogliosis más que la formación de un granuloma. Las características histológicas del granuloma pueden explicar las diferencias epileptógenas entre las lesiones producidas por la destrucción del tejido y lesiones granulomatosas en las cuales, aunque también hay destrucción del tejido, se acompañan de cambios de inflamación mediados por la respuesta inmune, produciendo una proliferación intensa de tejido cicatricial alrededor de la lesión, más si esta inflamación es crónica. La reacción inmune a un agente infeccioso alojado en el parénquima cerebral es responsable de un proliferación marcada de astrocitos y células microgliales, éstas lesiones son causa común de epilepsia secundaria. Por lo tanto, más que la lesión histológica inducida por el granuloma, la astrogliosis puede ser la fuente principal de descargas epilépticas en humanos y los cambios observados en la dinámica de las crisis inducidas experimentalmente. Los astrocitos como las neuronas, tienen canales

dependientes de voltaje (Bevan and Raff, 1985); estudios in vitro muestran que los astrocitos poseen alta afinidad por los mecanismos de captura para el glutamato y por el GABA, por lo tanto pueden jugar un papel en la inactivación de estos neurotransmisores (Schosbue, A., 1985). Considerando el efecto neurotóxico de varios aminoácidos, se supone que el deterioro en la captura de los neurotransmisores por los astrocitos contribuye a una necrosis neuronal selectiva, tal y como se observa en la capa piramidal del hipocampo en la epilepsia (Bignami, A., 1986). Es una experiencia común ver a un paciente con una primera crisis, en quien los estudios de imagen revelan un granuloma calcificado en el parénquima cerebral (Del Brutto, O.H., 1992).

Las crisis inducidas por PTZ comienzan con mioclonías y progresan de una manera dependiente del tiempo hasta presentar las convulsiones debido a una activación secuencial, primero del cerebro anterior y más tarde de los sustratos convulsivos del tallo cerebral (Browning, R.A., et al., 1990; Magistris, M.R., et al., 1988; Mirski, M.A. and Ferrendelli, J.A., 1986; Velasco, F. et al., 1975). El núcleo talámico anterior es la estructura encargada de disparar la propagación de la actividad paroxística desde la corteza cerebral hasta las regiones del diencefalo, hipotálamo caudal, formación reticular y bulbar (Miller, J. W., et al., 1987). En los experimentos realizados, en los gatos con granuloma (K y T) en amígdala se disminuyó el umbral de las CP, indicando la facilitación del desarrollo del componente del cerebro anterior de las crisis inducidas por el PTZ. La falta de cambios en el umbral de las CG sugiere que una lesión granulomatosa en amígdala cerebral, la cual destruye el núcleo amigdalóide facilita las CP, pero no altera la ruta tálamo-reticular, que origina las CG causadas por la inhibición de sinapsis GABAérgicas (Bekenstein, J.W. and Lothman, E.W., 1993; Corda, M.G., et al., 1990; Craig, CH.R. and Colasanti, B.K., 1989; Gramlich, CH.A. and Stripling, J.S., 1987).

Se puede sugerir que la astriogliosis que rodea al granuloma en la amígdala constituye un foco irritativo que facilita el componente del cerebro anterior de las crisis inducidas por PTZ en la corteza orbito-frontal. En contraste, la falta de influencia sobre la propagación de la descarga inducida por PTZ al tallo cerebral y diencefalo pudiera indicar que la mediación del tálamo anterior del componente tónico-clónico no es afectado por el granuloma (Miller, J.W., et al., 1991).

Las lesiones cerebrales producidas experimentalmente, modifican el patrón de las crisis inducidas por PTZ de hecho, se ha demostrado que el umbral se reduce y la susceptibilidad a las crisis inducidas por PTZ es mayor en animales previamente expuestos a hipoxia prenatal (Matsumoto, M., 1990) o a encefalomiелitis alérgica experimental (Levine, S., et al., 1963). En monos, un foco epiléptico en corteza cerebral producido por crema de alumnio, a dosis bajas de PTZ induce CP (Johnson, C.H. and Walker, A.E., 1952).

Durante la estimulación eléctrica la presencia de un granuloma crónico en amígdala cerebral retrasa significativamente la primera crisis convulsiva y cuando ésta se establece, la duración de la PD es más prolongada tanto ipsilateral como contralateralmente, que aquella obtenida del grupo control. Nuestros resultados no corresponden con lo esperado, ya que la presencia de un granuloma como secuela de la NCC provoca la aparición de crisis epilépticas de inicio tardío; una característica similar, retraso en la generalización de las crisis con mayor duración se ha obtenido de estudios de interferencia y transferencia del kindling contralateral (Hiyoshi, T. and Wada, J.A., 1992), mostrando que la reorganización neuronal inducida por el Kindling (Tanaka, T., et al., 1991), es afectada por un fenómeno de transferencia desde la amígdala contralateral (Hiyoshi, T. et al., 1992; McIntyre, D.C. and Goddard, G.V., 1973). En este trabajo, los resultados obtenidos son similares a los de estos reportes.

Varios estudios han delineado la participación de áreas cerebrales específicas en la epilepsia experimental. La ablación o lesiones degenerativas, inducidas experimentalmente en diferentes estructuras, producen cambios en las características del fenómeno del kindling. El kindling se retrasa por la ablación del cuerpo calloso, el núcleo rojo, el pedúnculo cerebeloso superior o la comisura hipocampal (Paz, C., et al., 1991; Paz, C. and Reygadas, E., 1987); mientras que lesiones en la sustancia negra o en el hipocampo no lo afecta (N' Gouemo, P., et al., 1990) y las lesiones de la estria terminalis o el locus coeruleus lo facilitan (Engel, Jr. 1987).

En humanos, una ablación quirúrgica de diferentes zonas cerebrales rara vez causa epilepsia; en contraste los granulomas crónicos son la causa más frecuente de epilepsia sintomática (Medina, M.T. et al., 1990; Vázquez, V. and Sotelo, J., 1992).

Como la calcificación de un granuloma toma varios años, estos casos muestran un retraso prolongado en el desarrollo de la epilepsia, después de que la lesión aguda tomo lugar también, en algunos de estos pacientes, las crisis son difíciles de controlar terapéuticamente. Mostrando características similares a las observadas en este estudio, primero hubo un retraso en el desarrollo de las crisis, pero una vez que se estableció la epilepsia, las crisis llegan a ser más resistentes a la terapia anticonvulsiva. En pacientes con granuloma crónico en parénquima cerebral es frecuente observar CP, en los cuales las manifestaciones clínicas son ipsilaterales al granuloma (Sotelo, J. et al., 1989) apoyando la idea de una influencia mutua de áreas contralaterales (Hiyoshi, T. and Wada, J.A., 1992; McIntyre, D.C. and Goddard, G.V., 1973) en la génesis de la descarga epiléptica.

CONCLUSIONES

La formación de un granuloma (K) en parénquima cerebral de gatos fue similar en las características histológicas de un granuloma en humanos producido como secuela de una parasitosis como la NCC.

La presencia de un granuloma crónico en parénquima cerebral de gatos modifica el patrón de la latencia (reduce la dosis umbral) a las CP pero no altera la aparición de las CG inducidas por PTZ.

Un granuloma crónico en una área epileptógena contralateral, produce una respuesta que no corresponde a lo esperado, retrasa la aparición de las crisis convulsivas y prolonga la duración.

REFERENCIAS

1. -Adams, R.D. and Victor, M. (1993). *Epilepsy and disorders of consciousness. Epilepsy and other seizures disorders*. En: *Principles of Neurology*. Ed. Interamericana McGraw-Hill. 5a. ed. pp 273-297.
2. -Ajmone-Marsan, C and Ralston, B.L. (1957). *The epileptic seizures: Its functional morphology and diagnostic significance*. Springfield, Ill.: Thomas
3. -Bekenstein, J.W. and Lothman, E.W. (1993). Dormancy of inhibitory interneurons in a model of temporal lobe epilepsy, *Science*, 259:97-100.
4. -Bevan, S. and Raff, M. (1985). Voltage-dependent potassium currents in cultured astrocytes. *Nature*. 315: 229-232.
5. -Bignami, A. (1986). Astrocytes. In: Asbury, K.A., McKhann, M.G. and McDonald, W. (Eds). *Disease of the Nervous System. Clinical Neurobiology*. Vol. II. Heinemann, pp. 125-138.
6. -Bircher, R.P., Tatsuya K. and Wang, S.C. (1962). Intravenous, cortical and intraventricular dose-effect relationship of pentylenetetrazol, picrotoxin and deslanoside in dogs. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 14:256-267.
7. -Browning, R.A., Wang, C., Lanker, M.L. and Jobe, P.C. (1990). Electroshock and Pentylenetetrazol-induced seizures in genetically epilepsy-prone rats (GEPRs): differences in threshold and pattern, *Epilepsy Res.*, 61-11.
8. -Corda, M.G., Giorgi, O., Longioni, B., Orlandi, M. and Biggio, G. (1990). Decrease in the function of the γ -aminobutyric acid-coupled chloride channel produced by the repeat administration of pentylenetetrazol to rats, *J. Neurochem.*, 55: 1216-1221.
9. -Craig, Ch.R. and Colasanti, B.K. (1989). A study of pentylenetetrazol kindling in rats and mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 31: 867-870.

- 10.-Del Brutto, O.H., Santibañez, R., Noboa, C.A., Aguirre, R., Díaz, E. and Alarcon, T.A. (1992). Epilepsy due to neurocysticercosis: analysis of 203 patients. *Neurology* 43 : 389-392.
- 11.-Delgado, J.M.R. and Sevillano, M. (1961). Evolution of repeated hippocampal seizures in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 13:722-733.
- 12.-De Deyn, P.P. and McDonald, R. L. (1989). Effect of antiepileptic drugs on GABA response and on reduction of GABA responses by PTZ and DMCM on mouse neurons in cell culture. *Epilepsia* 30:310-328.
- 13.-De Deyn, P.P., D'Hooge, R., Marescau, B. and Pei, Y.Q. (1992). Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. *Epilepsy Res.* 12:87-110.
- 14.-Dreifuss, F.E. (1981). Commission of Classification and Terminology of the International League against Epilepsy. Proposal revised clinical and and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, 22:489-501.
- 15.-Escobar, A. (1983). The pathology of neurocysticercosis. In: E. Palacios, J. Rodriguez- Carbajal and J.M. Taberas (Eds), *Cysticercosis of the Central Nervous System*, Charles C. Thomas, Springfield, IL. pp. 27-54.
- 16.-Engel, Jr. J. (Ed.) *Surgical treatment of the epilepsies*, Raven press, New York 1987.
- 17.-Engel, J. (1991). Clinical aspects of epilepsy. *Epilepsy Res.* 109-17.
- 18.-Engel, J. Jr. (1992). Experimental animal models of epilepsy: clasification and relevance to human epileptic phenomena.(in) Avanzini, G. Engel Jr. J., Fariello, R., Heinemann, U.eds. "Neurotransmitters in epilepsy". *Epilepsy Res. Supp.* 8: 9-20.
- 19.-Fisher, R.S. (1989) Animals models of the epilepsies. *Research Reviews*, 14 245-278.

- 20.-Fisher, R.S. (1991) Animals models of epilepsies. In: Fisher, R.S., Coyle, J.T. eds. Neurotransmitters and epilepsy. Wiley-Liss, Inc. New York. vol 11pp 61-76.
- 21.-Fowler, J. and Partridge, D. (1984). Effect of pentylenetetrazol on inward currents of non-bursting neurons and its role in plateau formation. *Brain Res.* 304:47-58.
- 22.-Gloor, P., Olivier, A., Quesney, L.F., Anderman F. and Horowitz, S. (1982). The role of the limbic system in experiential phenomena of temporal lobe epilepsy. *Ann.Neurol.* 12:129-144.
- 23.-Goddard, G.V. and McIntyre, D.C. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.* 25: 295-330.
- 24.-Goddard, G.V. and Douglas, R.M. (1975). Does the engram of kindling model the engram of long term memory. *Canad. J. Neurol. Sci.* 2:385-394.
- 25.-Gramlich, Ch.A. and Stripling, J.S. (1987). Effect of pentylenetetrazol-induced convulsions on the development and expression of limbic kindled seizures. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 26 :159-165.
- 26.-Grecksch, G., Becker, A. and Matthies, H. (1990). Threshold to elicit seizures by picrotoxin is lowered in pentylenetetrazol-kindled mice. *Neuropharmacology.* 29(11):1073-1074.
- 27.-Halonen, T., Ptkänen, A., Partanen, J. et al. (1992). Amino acid levels in cerebrospinal fluid of rats after administration of pentylenetetrazol. *Com. Biochem. Physiol.* 101c(1):21-25.
- 28.-Hiyoshi, T. and Wada, J.A. (1992). Lasting nature of both transfer and interference in amygdaloid kindling in cats: observation upon stimulation with 11-month rest following primary site kindling. *Epilepsia.* 33:222-227.
- 29.-Johnson, C.H. and Walker, A.E. (1952). Response of experimental epileptic foci to intravenous and topical metrazol. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 4: 131-139.

- 30.-Levine, S., Payan, H. and Strebel, R. (1963). Metrazol threshold in experimental allergic encephalomyelitis, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 113: 901-902.
- 31.-Löscher, W., Hönack, D. Fassbende, C.P. and Nolting, Björn. (1991). The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylenetetrazole seizure models. *Epilepsy Res.* 8:171-189.
- 32.-Löscher, W. (1993). Basic aspects of epilepsy. *Current opinion in Neurology and Neurosurgery.* 6:223-232.
- 33.-Luna G.L. (1960). *Manual of histologic staining methods of the armed forces Institute of Pathology.* Third edition. Ed. Mc.Graw-Hill, pag. 258.
- 34.-Magistris, M.R., Mouradian, M.S. and Gloor, P. (1988). Generalized convulsions induced by pentylenetetrazol in the cat: Participation of forebrain, brainstem and spinal cord, *Epilepsia,* 29:379-388.
- 35.-Majkowski, J. (1986). Kindling: A model for epilepsy and memory. *Acta Neurol. Scand;* 74:97-108.
- 36.-Matsumoto, M. (1990). The effects of perinatal hipoxia on pentylenetetrazol-induced seizures in developing rats. *Life Sci.,* 46:1787-1792.
- 37.-McIntyre, D.C. and Goddard, G.V. (1973). Transfer, interference and spontaneous recovery of convulsions kindled from the rat amygdala. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 35:533-543.
- 38.-Medina, M.T., Rosas, E., Rubio-Donnadieu, F. and Sotelo, J. (1990). Neurocysticercosis as the main cause of the late-onset epilepsy in México, *Arch. Intern. Med.* 150:323-325.
- 39.-Miller, J.W., Mckeon, A.C. and Ferrendelli, J.A. (1987). Functional anatomy of pentylenetetrazol and electroshock seizures in the brainstem, *Ann. Neurol.* 22:615-621.

- 40.-Miller, J.W., Bardget, M.E. and Gray, B.C. (1991). The role of the laterodorsal tegmental nucleus of the rat in experimental seizures.
- 41.-Mirski, M.A. and Ferrendelli, J.A. (1986). Anterior thalamic mediation of generalized pentylenetetrazol seizures, *Brain Res.* 399:212-223. *Neuroscience* 43:41-49.
- 42.-Mirski, M.A. and Ferrendelli, J.A. (1986a). Selective metabolic activation of the mammillary bodies and their connections during ethosuximide-induced suppression of Pentylenetetrazol seizures. *Epilepsia*, 27 (2):194-203.
- 43.-Mirski, M.A. and Ferrendelli, J.A. (1987). Interruption of the connections of the mammillary bodies protects against generalized pentylenetetrazol seizures in guinea pigs. *J. Neurosci.* 7:662-670.
- 44.-N'Gouemo, P., Lemer-Natoli, M. Rondouin, G., Watanabe, K., Sandillon, F., Privat, A. and Baldy-Moulinier, M. (1990). Catecholaminergic systems and amygdala kindling development. Effects of bilateral lesions of substantia nigra dopaminergic or locus coeruleus noradrenergic neurones. *Epilepsy Res.* 5:92-102.
- 45.-Paz, C. and Reygadas, E. (1987). Red nucleus lesions delay the evolution of amygdala kindling in cats. *Brain Res.* 422:99-105.
- 46.-Paz, C., Gutiérrez-Baeza, F. and Bazan-Perkins, B. (1991). Transection of the superior cerebellar peduncle interferes with the onset and duration of generalized seizures induced by amygdaloid kindling. *Brain Res.* 558:90-92.
- 47.-Pellmar, T. and Wilson, W. (1977). *Synaptic mechanisms of pentylenetetrazol: Selectivity for chloride conductance.* *Science*, 197:912-914
- 48.-Pinel, J.R. and Cheung, K.F. (1977). Controlled demonstration of metrazol kindling. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 6:599-600.
- 49.-Prichard, J. (1971). Pentylenetetrazol-induced increase in chloride permeability of leech neurons. *Brain Res.* 27:414-417.

- 50.-Racine, A.J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 32:281-294.
- 51.-Ramanjaneyulu, R. and Ticku, M.J. (1984). Interactions of pentamethylenetetrazole and tetrazole analogues with the picrotoxin site of the benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex. *Eur. J. Pharmacol.* 98:337-345.
- 52.-Richards, R.K. and Everett, G.M. (1944). Analgesic and anticonvulsive properties of 3,5,5-trimethyloxazolidine-2,4-dione (Tridione). *Fed. Proc.* 3:39.
- 53.-Robbins, S.L., Angell, M. y Kumar, V. (1985). Inflamación y Reparación. En: *Patología Humana*. Ed. Interamericana. 3a. ed. pp. 29-63.
- 54.-Rubio-Donnadieu, F. (1986). Generalidades y clasificación de la epilepsia. En: Velasco, F., Martínez, M.D. y Rubio-Donnadieu, F.(Eds.). *Epilepsia, un enfoque interdisciplinario*. Trillas. pp. 19-27.
- 55.-Scott, P.A. and Sher, A. (1993). Immunoparasitology. In: Paul, E.W. (Ed) *Fundamental Immunology*. Thrith edition. Raven press New York pp. 1179-1210.
- 56.Schosbue, A. (1985). Trasmmitter uptake by glia cells. Communicated at the workshop on glial development and function. Seillac (France) March 31-April 4.
- 57.-Shorvon, S.D. (1986). Classification of epilepsy In: Asbury, A. K., Mckhann, G. M. and Mc Donald, N. I. (Eds). *Diseases of the nervous system. Clinical Neurobiology*. Vol. II pp. 970-981.
- 58.-Snyder, R.S. and Niemer, W.T. (1961). *A stereotaxic atlas of the cat brain*, University of Chicago Press, Chicago, I.L.
- 59.-Sotelo, J. (1984). Cisticercosis y epilepsia. En: Otero, E., Vega, G., Romano, V. Eds. *Epilepsia, principios y práctica*. Camelice, pp 199-205.
- 60.-Sotelo, J., Garcia, E. and Rubio-Donnadieu, F. (1989). Granuloma en parénquima cerebral. Un modelo humano para el estudio de epilepsia. *Gac. Méd. Mex.* 125:31-35.

- 61.-Speckman, E. and Capersers, H. (1973). Paroxysmal depolarization and changes in action potenciales induced by Pentylenetetrazol in isolated neurons of *Helix pomatio*. *Epilepsia*, 14:397-408.
- 62.-Tanaka, T., Kondo, S., Hori, T., Tanaka, S. and Yonemasu, Y. (1991). *Brain Res.* 559:154-158.
- 63.-Turk, L.J. (1992). Granulomatous diseases. In: McGee, O.D., Isaacson, G.P. and Wright, A.N. (Eds). *Oxford text of Pathology. Principles of Pathology Vol 1* pp. 394-406.
- 64.-Vázquez, V. and Sotelo, J. (1992). The course of seizures after treatment for cerebral cysticercosis, *New Engel. J. Med.* 327:696-701.
- 65.-Velasco, F., Velasco, M., Estrada-Villanueva, F. and Machado, J.P. (1975). Specific and nonspecific multiple unit activities during the onset of pentylenetetrazol seizures. I. Intact animals, *Epilepsia*. 16:207-214.
- 66.-Wada, J.A. and Sata, M. (1974). Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala in cats. *Neurology*. 4:565-574.
- 67.-Wayne, W.D. (1987). *Bioestadística*, Ed. LIMUSA 3a. ed., pag. 667.