

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Psicología

Tesis que presenta

Raymundo Báez Mendoza

para obtener el título de

Licenciado en Psicología

**“Evaluación de los cambios en la ansiedad y la
conducta compulsiva inducida por ácido kaínico
en rata”**

Directora de Tesis: Mtra. Gabriela Orozco Calderón

Revisora de Tesis: Dra. Irma Yolanda del Río Portilla

Asesor: Dra. Luisa Lilia Rocha Arrieta



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.

"Dentro de circunstancias experimentales cuidadosamente planeadas, un animal se va a comportar como le plazca."

Ley de Harvard del comportamiento animal.

"Conocemos dos tipos de cosas de lo que llamamos nuestra vida mental: primero, su órgano o escenario, el cerebro y segundo, nuestros actos, que son datos inmediatos y no pueden ser explicados por alguna descripción. Todo lo que yace entre ambos es desconocido para nosotros."

Freud, Abriss der Psycho Analyse

Agradecimientos

Agradezco a todas las personas que me ayudaron en la realización del presente estudio, quisiera señalar sus nombres.

A la Dra. Luisa Lilia Rocha Arrieta, quién me hospedó en su laboratorio desde diciembre del 2000, producto de esa estancia es el presente estudio y mi pasión por las neurociencias

A los miembros del jurado qué revisaron a consciencia la presente investigación.

A la Mtra. Gabriela Orozco Calderón, las discusiones y sus atinados consejos experimentales y de redacción para mejorar, y en mucho, la calidad de mi tesis.

Al Dr. Fructuoso Ayala Guerrero quién me aconsejó sobre la dirección de la discusión.

A la Mtra. Gabriela Castillo Parra quién me ayudó mucho en el análisis estadístico de mis datos, y quién también me señaló la importancia de la relación entre la investigación básica y la clínica.

Al Dr. Cesar Casasola Castro, quién me ayudo en todas las fases del presente estudio.

A la Dra. Irma Yolanda del Río Portilla por su comprensión y dedicación al presente estudio.

En especial quisiera agradecer al Dr. Alonso Fernández Guasti, quién amablemente me permitió utilizar su laboratorio para realizar los estudios conductuales, y a quién también le agradezco valiosas discusiones.

También agradezco al Lic. Hector Velásquez quién me ayudó en las múltiples búsquedas de referencias para el presente estudio y otros más.

Dedicatoria.

Todo lo bueno de mi vida se lo debo a ustedes, ¡Todo lo malo es mi error!

A mi familia: Mi Ma, mi Pa, y mis hermanos Camilo y Taidita.

A todos mis amigos.

Edgar, Ernesto y Pablo.

Ignacio, Anibal, Sebastián, Derzu, Alfredo, Adrianochi, Fernán, Leonardo, Renata y Rafael

Naxi y Martí, Daniel, Danny, Gerardo y Ricardo. Rita.

David, Trisha, Unai y Ro

Ariadna y Jose Miguel

Adriana Arias y Frida,

Alex, Ana Paula, Angélica, Carlos, David, Rocío, Jorge Frayman y Diego.

Nadia y todos los que me faltaron....

A los miembros del seminario de neurociencias: Angélica, Beatriz, Corine, Elían, Jana, Guadalupe, Patricia, Zeidy y en especial a Natalia.

A mis compañeros de laboratorio. Male, Eva, Chela, Leo, Lili, Leti, Manola, Ceci, Christian, Clau y la doctora.

A cuatro maestros en la licenciatura quienes me motivaron a seguir este camino que apenas inicia.

Karin Wriedt, Alvaro Torres, Gabriela Orozco y Cesar Casasola.

El presente estudio se realizó en los laboratorios de epilepsia a cargo de la Dra. Luisa Lilia Rocha Arrieta y de farmacología conductual del Dr. Alonso Fernández Guasti en el departamento de Farmacobiología del CINVESTAV sede sur.

Índice

| | |
|--|-----------|
| RESUMEN | 4 |
| 1 INTRODUCCIÓN | 5 |
| 1.1 Antecedentes de la relación entre epilepsia y psicopatología..... | 5 |
| 1.2 Epilepsia..... | 8 |
| 1.2.1 Epilepsia del lóbulo temporal | 10 |
| 1.2.1.1 El modelo de ácido kaínico..... | 12 |
| 1.3 Ansiedad..... | 16 |
| 1.4 La ansiedad en la epilepsia del lóbulo temporal | 19 |
| 1.4.1 Factores psicosociales | 20 |
| 1.4.2 Factores neuropatológicos..... | 21 |
| 1.4.3 Efectos del tratamiento..... | 24 |
| 1.5 Ansiedad en modelos animales de epilepsia. | 25 |
| 1.6 Planteamiento del problema | 28 |
| 1.6.1 Hipótesis..... | 28 |
| 1.6.2 Objetivo General..... | 29 |
| 1.6.3 Objetivos específicos | 29 |
| 2. MÉTODO | 30 |
| 2.1 Sujetos..... | 30 |
| 2.2 Materiales e instrumentos | 30 |
| 2.2.1 Prueba de Enterramiento Condicionado | 30 |
| 2.2.2 Prueba de Alternancia Espontánea o PAE..... | 31 |
| 2.2.3 Fármacos utilizados | 33 |
| 2.3 Procedimientos | 34 |
| 2.3.1 Experimento 1. Contrabalanceo del diseño experimental..... | 34 |
| 2.3.1.1 Grupos Experimentales..... | 34 |
| 2.3.2 Experimento 2. Análisis del efecto del AK en la ansiedad y conducta compulsiva | 34 |
| 2.3.2.1 Grupos Experimentales | 34 |
| 2.4 Análisis Estadístico | 35 |
| 2.4.1 Análisis estadístico del experimento 1..... | 35 |
| 2.4.2 Análisis estadístico del experimento 2..... | 36 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3 | RESULTADOS | 38 |
| 3.1 | Experimento 1. Contrabalanceo del diseño experimental..... | 38 |
| 3.2 | Experimento 2. Análisis del efecto del AK en la ansiedad y conducta compulsiva | 38 |
| 3.2.1 | Conducta convulsiva después de la administración de AK..... | 38 |
| 3.2.2 | Epilepsia y Conducta en el grupo AK7 | 40 |
| 3.2.3. | Epilepsia y Conducta en el grupo AK28 | 40 |
| 3.2.4 | Epilepsia y Conducta en el grupo AK150 | 41 |
| 3.2.5 | Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de las variables en las pruebas de enterramiento condicionado y de alternancia espontánea | 42 |
| 3.2.5.1 | Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de TE..... | 42 |
| 3.2.5.2 | Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de LE..... | 43 |
| 3.2.5.3 | Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de TR | 45 |
| 3.2.5.4 | Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de CH..... | 46 |
| 3.2.5.5 | Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales en la PAE..... | 47 |
| 4 | DISCUSIÓN | 49 |
| 4.1 | Conducta de enterramiento post AK | 49 |
| 4.1.1 | Cambios neuronales y en los sistemas GABAérgicos y colinérgicos inducidos por el AK en el circuito septo hipocampal como posible sustrato de la ansiólisis en el enterramiento | 54 |
| 4.1.2 | Los cambios en el sistema de péptidos opioides inducidos por el AK como posible sustrato neuronal de la ansiólisis en el enterramiento. | 59 |
| 4.1.3 | Los cambios en el sistema serotoninérgico inducidos por el AK como posible sustrato neuronal de la ansiólisis en el enterramiento. | 61 |
| 4.2 | Conducta de alternancia espontánea post AK | 63 |
| 5 | CONCLUSIONES | 67 |
| 6 | PERSPECTIVAS | 68 |
| 7 | GLOSARIO | 70 |
| 8 | ÍNDICE DE ABREVIATURAS | 72 |
| 9 | BIBLIOGRAFÍA | 74 |

Índice de figuras.

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. ESQUEMA DEL SISTEMA LÍMBICO POST AK..... | 15 |
| FIGURA 2. APARATO PARA LA PRUEBA DE ENTERRAMIENTO CONDICIONADO. | 31 |
| FIGURA 3. LABERINTO EN T UTILIZADO EN LA PAE. | 33 |
| FIGURA 4. DIAGRAMA DE BARRAS DE LA LATENCIA A PRESENTAR LAS DIFERENTES FASES INDUCIDAS POR LA ADMINISTRACIÓN DE AK | 39 |
| FIGURA 5. DIAGRAMA DE BARRAS DEL TIEMPO ENTERRANDO EL ELECTRODO DURANTE LA PRUEBA DE ENTERRAMIENTO. | 43 |
| FIGURA 6. DIAGRAMA DE BARRAS DE LA LATENCIA A ENTERRAR EN SEGUNDOS (LE) EL ELECTRODO DURANTE LA PRUEBA DE ENTERRAMIENTO..... | 45 |
| FIGURA 7. DIAGRAMA DE BARRAS DEL TIEMPO EN “REARING” DURANTE LA PRUEBA DE ENTERRAMIENTO | 46 |
| FIGURA 8. DIAGRAMA DE CAJA DEL NÚMERO DE CHOQUES RECIBIDOS DURANTE LA PRUEBA DE ENTERRAMIENTO..... | 47 |
| FIGURA 9. DIAGRAMA DE CAJA DEL NÚMERO DE REPETICIONES EN LA PRUEBA DE ALTERNANCIA ESPONTÁNEA..... | 48 |
| FIGURA 10. CIRCUITO SEPTOHIPOCAMPAL POST AK..... | 58 |
| FIGURA 11. CIRCUITO ORBITOFRONTAL INVOLUCRADO EN EL TOC..... | 64 |

Resumen

Alrededor del 50% de los pacientes con epilepsia del lóbulo temporal (ELT) padecen síntomas de ansiedad. El presente estudio se realizó con el propósito de evaluar la conducta de ansiedad y de compulsividad en el modelo de epilepsia con ácido kaínico, que de manera progresiva induce daño neuronal y ELT. Se utilizaron ratas Wistar macho a las que se les administró AK (9 mg/kg i.p.), el cual provocó “estatus” epiléptico. A los 7 (n=9), 28 (n=7) y 180 (n=12) días postadministración de AK se analizó el grado de ansiedad utilizando la prueba de enterramiento en la que se evaluaron cuatro variables: latencia de enterramiento, tiempo de enterramiento del electrodo, tiempo en “rearing” y número de choques recibidos. La conducta compulsiva se analizó con la prueba de alternancia espontánea, en la cuál la variable dependiente es el número de perseverancias. Cada grupo experimental se comparó con un grupo control tratado con sol. salina. En el presente estudio encontramos que los animales que fueron tratados con AK en la prueba de enterramiento defensivo condicionado están ansiolizados. La conducta compulsiva no se modificó por el AK. Se discuten cuáles son los probables sitios anatómicos y sus respectivos neurotransmisores responsables de estos cambios conductuales.

1 Introducción

1.1 Antecedentes de la relación entre epilepsia y psicopatología

La epilepsia ha acompañado a la humanidad en su evolución histórica. Desde la época de las primeras escrituras se reportan casos, que se piensa, son de personas epilépticas. El caso citado más antiguo es el de Talo, esclavo en Babilonia hace más de 5,000 años, quién vivía apartado del resto de sus colegas por temor a esparcir entre ellos su enfermedad (epilepsia) (García-Albea, 1999).

El código de Hammurabi señala que sí se descubría que un esclavo sufría de convulsiones, este podía ser devuelto al dueño original porque los esclavos con esta discapacidad no podían trabajar a la par del resto de sus compañeros. En otro documento datado en esa época se relacionaba a la epilepsia con la mano del pecado y con el dios de la luna, por lo que la relación entre epilepsia, religión y psicopatología es antiquísima.

La enfermedad sagrada era referida en Grecia como *επιλαμβαλειν* (epilambalein), que significa ser atacado, sorprendido, convulsionar o ser sobrecogido violentamente (Brailowsky, 1999; Engel, 1989; Feria-Velasco, Martínez de Muñoz, y Rubio Donadieu, 1997; García-Albea, 1999). La raíz etimológica -epil- ha prevalecido en las lenguas romances, que en otras culturas como por ejemplo la hindú, le tenían asignado un nombre: Ashepak, los babilonios: Antassabu o la enfermedad de caer (Engel, 1989). La etiología de la epilepsia, así como de la histeria, se atribuía a Selene, la diosa de la luna (aunque el término "lunático" proviene de la Edad Media). Al respecto de la creencia del origen místico de la epilepsia, Hipócrates escribió: "Los hombres creen que la epilepsia es divina simplemente porque no la entienden. Pero si llamaran divino a

todo lo que no entienden, realmente las cosas divinas no tendrían fin" (González de Alba, 2001).

Galeno, médico romano del siglo I D.C., clasificó a la epilepsia en idiopática, sintomática y cardiopática. En cuanto a la cardiopática, la cultura grecorromana atribuía al corazón el asiento de las emociones (Brailowsky, 1999), costumbre arraigada en nuestra cultura, por lo que se puede inferir que para Galeno una de las causas de la epilepsia era una modificación en las emociones.

En el nuevo testamento, el pasaje descrito por San Marcos (9:14-29) cuenta como Cristo arroja afuera del cuerpo de un niño poseído, al demonio que lo hacía convulsionar. Durante la Edad Media, la medicina fue rechazada de las costumbres occidentales por ser herejía y los epilépticos tenían que ocultar su enfermedad con el terror de ser acusados de posesión demoníaca, situación que perduró en los siguientes siglos en la figura de la Santa Inquisición (García-Albea, 1999).

El renacimiento fue una bocanada de aire fresco para los epilépticos y la humanidad, aunque esta transición fue paulatina. Durante esta época, la etiología de la epilepsia se conceptualizó como resultado de una irritación cerebral y de la médula oblonga (Engel, 1989).

Gilaberto Jofré fue el fundador del primer hospital psiquiátrico en el mundo occidental en donde se atendían por igual "lunáticos" y epilépticos. Estos hospitales psiquiátricos funcionaban como cárceles especializadas para enfermos mentales en donde vivían con grilletes. Fue hasta principios del siglo XIX, cuando Pinel logró en Francia que hubiera una liberación de los grilletes, transformando las cárceles en asilos. Los

epilépticos en ese mismo siglo fueron separados y confinados a unidades especiales y después se crearon institutos especiales para ellos (García-Albea, 1999).

Tres personalidades también marcaron el rumbo en la conceptualización de la epilepsia y su relación con la psicopatología en el siglo XIX. Charcot, durante sus investigaciones en la Salpêtrière en París sobre la histeria, separó a la misma de la posibilidad de ser una crisis epiléptica. Hughlings Jackson estuvo interesado en estudiar la fisiopatología de las crisis y propuso la primera definición científica de la epilepsia: “Una descarga ocasional, súbita, excesiva, rápida y localizada de la sustancia gris”. Morel en Francia siguió la teoría unitaria y promovió el concepto de epiléptico violento. Para él, la enfermedad era el resultado de una tendencia degenerativa que finalmente llegaría a la idiocia. Lombroso, el famoso frenólogo italiano, siguiendo la idea de Morel apoyó la idea de que la epilepsia es un lazo unitario entre el imbecil moral y el criminal (Sánchez Caro, 1991).

En esta época se considera a la epilepsia como un fenómeno neurológico que puede estar asociado con diversas psicopatologías, pero que no es una condición inequívoca para que se desarrollen en el paciente. La comprensión de los mecanismos que están involucrados en el establecimiento de las diversas psicopatologías que usualmente se observan en los epilépticos se puede ver beneficiada por la investigación de modelos animales de este fenómeno en particular, que en última instancia redundara en el desarrollo de estrategias preventivas y en el tratamiento de psicopatologías comórbidas con la epilepsia y una mejor comprensión de la epilepsia y de los trastornos psiquiátricos.

1.2 Epilepsia

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la epilepsia como "una afección crónica, de etiologías diversas, caracterizada por la repetición de crisis resultantes de la descarga excesiva de neuronas cerebrales independientemente de los síntomas clínicos o paraclínicos eventualmente asociados" (Feria-Velasco y col., 1997).

Las crisis epilépticas presentan tres etapas: la crisis en sí o período ictal, el período postictal que involucra los efectos inmediatos de la crisis y que puede durar de unas horas hasta días, y el período interictal es el periodo entre crisis y crisis. Aunque la transición de una fase a la otra puede ser ambigua, la mayoría de los pacientes tienen patrones estables de una crisis a la otra. Los síntomas asociados al ictus o al estado postictal son transitorios y pueden estar acompañados por otras características de una crisis clásica. Algunos pacientes tienen más de un trastorno cada uno dependiente de los diferentes períodos (Marsh y Rao, 2002).

De acuerdo con la OMS, alrededor del 5% de la población mundial ha tenido al menos una crisis en su vida, por lo menos cuarenta millones de humanos son epilépticos cifra equivalente al 1 % de la población mundial o la población entera de Alemania. En México no se han realizado estudios epidemiológicos sobre esta condición, basándose en los estimados mundiales Brailowsky (1999) calcula que alrededor del 2% de la población mexicana ha tenido al menos una crisis convulsiva en su vida.

La fisiopatología de los síndromes epilépticos se origina de la combinación de predisposición no específica, cambios epileptogénicos y factores precipitantes (Engel, 1989).

Una crisis epiléptica puede ser inducida en cualquier persona dada la combinación exacta de circunstancias, la facilidad con que se induce una crisis depende de diferencias individuales en ese umbral (Engel, 1989). Trastornos específicos que dan paso a las crisis epilépticas pueden derivarse de defectos genéticos, como en el caso de las canalopatías, y/ o defectos adquiridos, como la anoxia, el trauma físico o las infecciones. Los factores precipitantes pueden ser específicos, como la exposición a luz estraboscópica o hiperventilación, o ser no específicos, como el estrés, la privación de sueño, o la ingesta de algunos fármacos (Engel, 1989).

Hoy en día se reconoce que cuando grandes poblaciones de conexiones nerviosas se sincronizan sobreviene una crisis epiléptica (McCormick y Contreras D., 2001). Los cambios inducidos por la epilepsia en el funcionamiento y la estructura neuronal pueden reflejar la continuación del proceso epileptogénico y las reacciones homeostáticas hacia las crisis para alargar lo más posible el estado interictal y prevenir el desarrollo y dispersión de la descarga ictal una vez iniciada (Engel y Rocha, 1992).

| Crisis | | | |
|-------------------|--|--|---|
| Parciales | | Generalizadas | |
| Caracterizada por | | Caracterizada por pérdida de la consciencia y: | |
| Simple | <i>Sin pérdida de la consciencia</i> | Ausencia | <i>Sin pérdida del tono</i> |
| Compleja | <i>Con pérdida de la consciencia</i> | Mioclónicas | <i>Movimientos arrítmicos breves y jaleos</i> |
| Generalizada | <i>Generalización secundaria con crisis tónico clónica</i> | Clónica | <i>Movimientos de jaleo rítmicos y motores</i> |
| | | Tónica | <i>Extensión o flexión súbita de la cabeza</i> |
| | | Tónico-clónicas | <i>Combinación de crisis clónicas y tónicas</i> |
| | | Atónicas | <i>Pérdida del tono muscular</i> |

Tabla 1. Clasificación de los tipos de crisis epilépticas.

1.2.1 Epilepsia del lóbulo temporal

El concepto de síndrome epiléptico implica que tiene una historia natural y una prognosis que en parte reflejan la neurobiología del síndrome (Sutula, 1990). La epilepsia del lóbulo temporal (ELT), se distingue por que el foco o sitio de origen de la descarga epiléptica se encuentra en el lóbulo temporal, ya sea en la corteza o en estructuras subcorticales que conforman el sistema límbico. La sintomatología incluye alteraciones sensoriales, mentales, viscerales y somatomotoras (Ben-Ari, 1985). La ELT representa casi el 40% del total de las crisis convulsivas y el 55% de las crisis en adultos, por lo que es un síndrome de consecuencias sociales y médicas considerables (Sutula, 1990).

Generalmente, la presentación de una crisis del lóbulo temporal está precedida por sensaciones o aura que es un heraldo de la crisis. Las auras involucran sintomatología variada, que puede ser de tipo autónoma, motora o psíquica. Por otra parte, pueden existir síntomas psicopatológicos asociados al aura y a la presentación de crisis parciales, especialmente las de tipo parcial simple (Marsh y Rao, 2002). La ansiedad es un síntoma comúnmente descrito durante una crisis, mientras que el miedo es una experiencia típica durante el aura (Nickell y Uhde, 1992). No solo existen sensaciones negativas durante el aura. Dostoyevski, en el Idiota, describe mediante la voz del Príncipe Miskin el éxtasis de sus crisis: "...que en su condición epiléptica; existía un momento antes del ataque mismo cuando repentinamente, en medio de la tristeza, la obscuridad y la opresión, su mente se inflamaba y todas sus fuerzas vitales se expandían al mismo tiempo, en una explosión poco usual" (Dostoyevski, 1867).

Numerosos estudios quirúrgicos y postmortem han demostrado que existe una asociación entre la ELT y un patrón de pérdida neuronal al que Sommer, en el siglo XIX,

bautizó como esclerosis hipocampal. Esta se caracteriza por pérdida neuronal y gliosis en el hipocampo, específicamente en las regiones CA1, CA3 y el hilus/CA4, el subículo y en algunos casos inclusive la lámina granular del giro dentado. La esclerosis hipocampal se reporta en cerca del 66% de los pacientes con crisis complejas parciales (Ben-Ari, 1985 y Sutula, 1990). Este patrón de pérdida neuronal es seguido por un reacomodo de las conexiones que consiste en que las neuronas granulares del giro dentado forman nuevas sinápsis con las neuronas de su misma lámina, e inclusive con sus dendritas. La reorganización de las fibras musgosas es funcional y excitatoria, por lo que se especula que el aumento en la excitación recurrente en esta población podría inducir y mantener la actividad epiléptica (Sutula, 1990; Lynch y Sutula, 2000). Aunque la descarga epiléptica generalmente se origina en la formación hipocampal, el complejo amigdalino juega un papel directo en la producción de la mayoría de los síntomas, como el miedo ictal y los signos oro-alimentarios, los últimos son características que provoca la descarga epiléptica en el control motor de la boca y reminiscencias a conductas asociadas al comer, como lo es la masticación y la salivación (Ben-Ari, 1985).

En la actualidad se utilizan tres modelos experimentales en animales que inducen cambios similares a los observados en la ELT del humano. Uno de ellos es llamado “kindling” que consiste en una serie de estimulaciones eléctricas o químicas inicialmente subumbrales en estructuras límbicas, que de manera progresiva producen cambios conductuales y electrográficos que culminan en crisis generalizadas (Goddard, McIntyre, y Leech, 1969; Pinel y Cheung, 1977). Por otra parte, la administración sistémica de pilocarpina, un potente agonista muscarínico, produce crisis límbicas electrográficas y conductuales en ratas (Cavalheiro, Fernandes, Turski, y Naffah-Mazzacoratti, 1994), que

en su evolución es muy similar a la administración parenteral de ácido kaínico (AK). El uso del AK es otro modelo que se describirá a profundidad en el siguiente apartado.

1.2.1.1 El modelo de ácido kaínico

El AK es uno de los modelos crónicos de ELT. El AK, que en japonés significa el fantasma del mar, se aisló en la década de los cincuenta del alga *Digenea simplex*. Es un análogo del glutamato que cuando se administra parenteral (intraperitonealmente o vía intravenosa) o intracerebralmente induce convulsiones límbicas que llegan a durar hasta cinco horas, y por su repetida sucesión se le denomina *estatus epilepticus* (SE). La progresión de las crisis límbicas por AK iniciales se dividen en tres fases (Ben-Ari, 1985): durante los primeros 20 a 30 minutos los animales no responden a la estimulación ambiental, similar a una crisis de ausencia; los siguientes 30 minutos se caracterizan por movimientos rítmicos de la cabeza y sacudidas de perro mojado que se correlacionan con paroxismos en el resto de las estructuras límbicas y en especial en la amígdala e hipocampo; en las siguientes dos horas, el animal exhibe un SE, donde convulsiona continuamente, salivando y presentando movimientos rítmicos de la cabeza y los miembros anteriores durante 3 a 5 horas. Finalmente, la última fase se correlaciona con actividad epiléptica generalizada.

A las 24 horas después del AK, el animal presenta disminución de la actividad motora asociada a espigas epilépticas provenientes del hipocampo, que eventualmente se propagan a la corteza produciendo mioclonias de la cabeza. Posteriormente, de las 24 horas hasta los 30 días después de la administración de AK, aparecen crisis epilépticas de corta duración con clonías motoras generalizadas y rápida recuperación conductual. Estas conductas están asociadas a poliespigas hipocampales. La precedente fase es seguida de

un período de silencio que dura sesenta días aproximadamente durante el cuál no se detecta actividad epiléptica. Finalmente, a partir de los tres meses posteriores al AK se presentan crisis epilépticas límbicas espontáneas que progresivamente aumentan en frecuencia e intensidad. Es durante esta última etapa en la que se considera que el AK produce un modelo de ELT (Ben-Ari, 1985).

La administración de AK produce pérdida neuronal progresiva en varias áreas cerebrales, el área más afectada es el hipocampo. A partir del tercer día de la administración de AK, siempre y cuando haya SE, hay pérdida de células piramidales en CA3 y células del estrato polimórfico del giro dentado así como una degeneración de los axones de células hilares debido a la activación neuronal sostenida por el fármaco (Nadler, 1981; Ben-Ari, 1985; Lynch y Sutula, 2000). En las siguientes dos semanas los axones de las células granulares desarrollan colaterales recurrentes en los espacios vacantes. Este patrón de rearrreglo neuronal se acompaña de gliosis a lo que se le denomina esclerosis mesial temporal que involucra al hipocampo (Lynch y Sutula, 2000; Lowenstein, 2001).

El AK se une a receptores ionotrópicos a glutamato conformados por las subunidades KA-1 y KA-2 llamados AMPA/KAr (receptores a ácido kaínico; Hollmann y Heinemann, 1994). A pesar de ello, el daño neuronal se observa en las regiones donde hay un aumento en el metabolismo durante las convulsiones (Ben-Ari, 1985; Fig. 1). Todas ellas están interconectadas, ya sea con el hipocampo, la amígdala o el núcleo medial del tálamo (Ben-Ari, 1985). El septum lateral carece de receptores a kainato, pero, a diferencia del septum medial, su metabolismo aumenta durante las crisis límbicas inducidas por AK lo que sugiere que esta estructura es susceptible a presentar daño

neuronal (Ben-Ari, 1985), efecto que se confirma por la técnica histológica de fluorojade-B a los 7 días post AK (Zheng y col., 2002; Fig. 1).

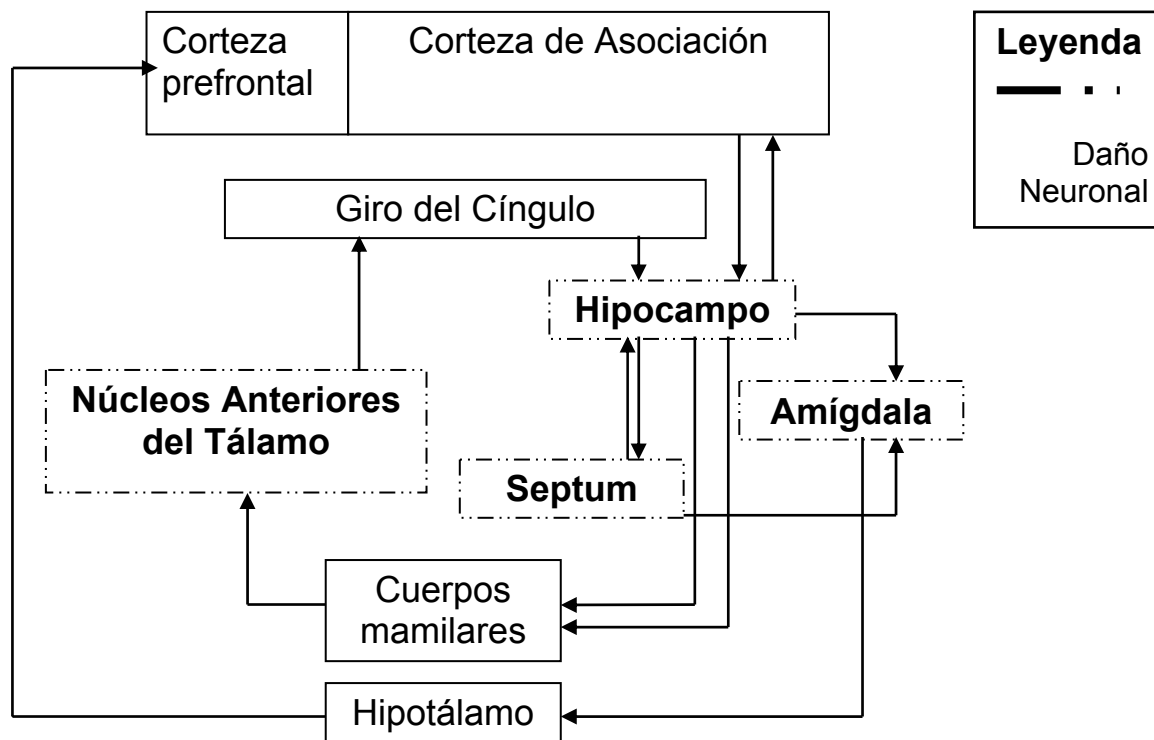


Figura 1. Esquema del sistema límbico post AK.

En cajas con líneas puntadas están señalados los núcleos cerebrales que empiezan a perder neuronas una semana después de la administración de AK. (Modificada de Kandel, Schwartz, y Jesell, 1991).

El AK, además de los efectos en la cantidad de neuronas funcionales, produce cambios en la conformación neuronal, especialmente en el número de receptores y la liberación de neurotransmisores. Heggli y Malthe-Sorensen, (1982) y Sperk y col. (1983) reportaron independientemente, que la administración de AK no modifica la síntesis de acetilcolina a las 24h después de su administración en el hipocampo, aunque si la disminuye en la corteza piriforme y la amígdala cerebral.

Aunque parezca contradictorio, al menos en el modelo de AK, la generación de crisis no se debe a una falta de inhibición (Ben-Ari y Cossart, 2000). En la primera semana después del AK, cuando inicia la gemación (“sprouting”) de las fibras musgosas,

no hay una depresión de la inhibición. Las células GABAérgicas que inhiben el giro dentado también mandan proyecciones al septum, y su actividad está aumentada (Hellier y col., 1999). Este efecto conocido como inhibición lateral se supone que está controlado por células que no son las musgosas (Buckmaster y Jongen/Relo, 1999), pero su mecanismo aún se desconoce. Otra evidencia que apoya un aumento de la inhibición en hipocampo fue dada por Rocha y Ondarza-Rovira (1999), quienes describieron que los niveles de receptores GABA_A sensibles a benzodiazepinas aumentan en el giro dentado a los 40 días después del AK, efecto no detectado a las 24h después del estatus epiléptico.

Las crisis epilépticas modifican a varios niveles a los péptidos opioides (Vindrola, Briones, Asai, y Fernandez-Guardiola, 1981; (Rocha, Ackermann, Nassir, Chugani, y Engel, 1993). El papel de los opioides durante las crisis puede ser epileptogénico o antiepileptico dependiendo del grado de excitabilidad neuronal, así como de su vía de administración, la localización del foco epiléptico y la etapa epiléptica en la que se encuentre el organismo –interictal, ictal, postictal- (Zieglansberger, French, Siggins, y Bloom, 1979). Con respecto al AK, se han detectado dos picos de liberación de opioides en el hipocampo después de su administración (Rocha y Maidment, 2003). Así mismo, a los 40 días después del estatus epiléptico inducido por el AK en ratas adultas hay un aumento en los niveles de receptores μ de los péptidos opioides en la amígdala y en el hipocampo (Pérez-Crúz y Rocha, 2002).

1.3 Ansiedad

La ansiedad es un concepto que se asocia a las teorías de la psicopatología a principios del siglo XX, cuando la teoría freudiana la colocó en el eje de las aflicciones psicológicas. Aunque la utilización de modelos experimentales de animales exige una

clara definición de las variables, sus definiciones de ansiedad únicamente corresponden al modelo y solo se acercan a alguno de los aspectos de la ansiedad humana (Graeff, Ferreira Netto, y Zangrossi, 1998).

Se considera a la ansiedad como un mecanismo adaptativo que permite responder a arreglos medioambientales que amenazan la supervivencia del individuo (Davis, 1992b). Goldstein y Harden dividieron a la ansiedad en dos aspectos complementarios: la ansiedad es un medio para detectar señales, discriminar aquellas que indican peligro y la capacidad para iniciar conductas filogenéticas y ontogenéticamente aprendidas para evitar el peligro (Goldstein y Harden, 2000). Clínicamente, el miedo es considerado como más específico al estímulo que la ansiedad, pero se puede argumentar que la ansiedad es un patrón conductual dependiente de estímulos, aunque sean menos obvios ((Davis, 1992a, 1992b; LeDoux, 2000). Por lo anterior, se puede ampliar este concepto considerando que es un continuo, en el que en el extremo adaptativo se encuentra el miedo y en el inadaptativo la ansiedad.

Las respuestas de miedo se pueden considerar como defensivas ya que permiten al organismo prevenir el daño potencial de un peligro (Bolles y Fanselow, 1980 citado en Domjan, 1999; LeDoux, 2000): hay un alertamiento autonómico, hipoalgesia, aumento en la liberación de hormonas del estrés, facilidad para sobresaltarse (Davis, 1992b) además de las respuestas señaladas por Cannon, que son huida o ataque (Carlson, 1999).

Actualmente se reconocen cinco tipos de trastornos de ansiedad: trastorno de ansiedad generalizada (TAG), trastorno obsesivo-compulsivo (TOC), fobias específicas, trastorno por estrés postraumático y crisis de angustia (APA, 2000). Los trastornos de ansiedad comórbidos con epilepsia pueden ser TAG, TOC y ataques de pánico

(Manchanda, 2002). Este trabajo se refiere específicamente al TAG y al TOC, por lo que si se requiere más información sobre los demás trastornos de ansiedad se refiere al lector al manual estadístico y diagnóstico de la American Psychiatric Association, el DSM-IV-TR (APA, 2000).

A menudo el TAG comienza en la niñez o adolescencia. Este trastorno es más común en las mujeres que en los hombres y afecta a cerca del 3.5% de la población de EUA (Jetty, Charney, y Goddard, 2001). Se caracteriza por un estado continuo de inseguridad y angustia, restringiendo la participación del sujeto en su entorno, aunado a un aumento en la actividad autonómica y cambios psicofisiológicos, como por ejemplo un aumento en la conductancia galvánica, que representa la resistencia que presenta la piel a la conducción eléctrica y se le considera un índice de estrés.

El TOC se refiere a una condición en la cuál se involucran pensamientos obsesivos acerca de preocupaciones irracionales y recurrentes que le causan malestar al sujeto que las sufre, además de reconocer que estos provienen de su mente, aunado a conductas compulsivas que son actos repetitivos formulados bajo estrictas reglas y su objetivo es contrarrestar la intromisión de las obsesiones, pero que no se logra, produciendo una escalada de malestar en el sujeto (APA, 2000).

Los síntomas del TOC se observan en varios síndromes neurológicos, incluyendo el síndrome de Tourette, Huntington, la enfermedad de Parkinson y disfunciones del lóbulo temporal como la epilepsia (Rapoport, 1989). Existe evidencia de que la amígdala y los circuitos cortico-estriato-talámicos son substratos anatómicos involucrados en el TOC (Stein, 2002).

Uno de los descubrimientos más consistentes en la investigación clínica del TOC es una mejoría significativa del 50 al 66% de los pacientes con el uso de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), en comparación del uso de otros antidepresivos o ansiolíticos (McDougle, 1999; McDougle, Barr, Goodman, y Price, 1999). Ensayos clínicos recientes combinando ISRS con neurolépticos típicos y atípicos como la olanzapina indican que el antagonismo de receptores a dopamina D₂ podrían reducir aún más la severidad de los síntomas del TOC en pacientes con desórdenes crónicos como el tic comórbido (McDougle y col., 1999).

1.4 La ansiedad en la epilepsia del lóbulo temporal

Alrededor del 50% de los pacientes con ELT padecen algún tipo de alteración afectiva interictal (Kalynchuk, Pinel, y Treit, 1998; Kalynchuk y col., 1998; Marsh y Rao, 2002). La ansiedad y la depresión son los trastornos psiquiátricos más comunes de esta población en particular (Manchanda, 2002).

No importa que tipo o cuál es la magnitud de las crisis, la interrupción del balance homeostático neuropsiquiátrico del cerebro por una convulsión o la repetición de los mismos puede modificar el funcionamiento de los núcleos cerebrales encargados del control y la expresión del miedo. Lo anterior puede dar paso a alteraciones conductuales duraderas como puede ser la ansiedad (Goldstein y Harden, 2000). Jerome Engel Jr. señala que las alteraciones conductuales interictales pueden tener causas psicosociales, neuropatológicas y terapéuticas. El peso relativo de cada uno de estos factores se desconoce, pero es importante conocerlos para poder comprender el fenómeno como unitario (Engel y Taylor, 1997).

Para poder conocer los factores que influyen en las alteraciones conductuales interictales es necesario que se utilicen modelos animales que reproduzcan las alteraciones conductuales y fisiopatológicas observadas en pacientes con epilepsia.

1.4.1 Factores psicosociales

El impacto negativo que tiene la condición epiléptica proviene en parte de las consecuencias psicosociales adversas, las cuales pueden originarse de la sobreprotección paternal y culpa, fracaso o logros por debajo de lo esperado debidos a restricciones en la escuela y en el trabajo, así como el estigma social asociado a la epilepsia (Engel, 1989; Engel y Rocha, 1992; Engel y Taylor, 1997; Taylor, 1997).

El médico o psicólogo que atiende al epiléptico o a su familia también puede tener un impacto negativo en la adaptación que estos tienen. Ha prevalecido el concepto de personalidad epiléptica (Bear y Fedio, 1977), en el cual erróneamente se cree que la condición epiléptica es acompañada de una personalidad característicamente negativa. Varios estudios señalan que esto no es necesariamente cierto (Nickel y Uhde, 1991; Mendez, Doss, Taylor, y Arguello, 1993; Manchanda, 2002; Dodrill y Batzel, 1986; Engel, Caldecott-Hazard, y Bandler, 1986; Engel y Taylor, 1997; Taylor, 1997).

Existen reportes que sustentan que los desórdenes conductuales tienen mayor prevalencia en pacientes epilépticos que en pacientes con otras condiciones igualmente deshabilitantes, aunque no apoyan la hipótesis de que los factores neurobiológicos son la causa principal de los mismos (Taylor, 1997).

La desesperanza aprendida juega un papel importante en la producción de ansiedad y depresión en pacientes epilépticos. Esta sucede cuando se expone a un organismo a estímulos que son adversos para su adaptación y que al principio no puede

evitarlos. Tiempo después, aunque el organismo pudiera tener control sobre los mismos, ha aprendido que a pesar de lo que haga, no podrá controlarlos y por lo tanto, no intenta detenerlos (Domjan, 1999). Este fenómeno permite sugerir que al no poder predecir ni controlar las convulsiones, se produce depresión en los pacientes epilépticos (Engel, 1989).

1.4.2 Factores neuropatológicos

La epilepsia resulta de procesos patológicos que pueden estar localizados o difusos, unilateral o bilateralmente, ser estáticos o progresivos dependiendo de su control médico. La epilepsia puede producir trastornos crónicos neurológicos o psiquiátricos relacionados con su substrato fisiopatológico, su localización o el estado de maduración cerebral (Engel y Taylor, 1997; Taylor, 1997).

Las lesiones del sistema límbico comparadas con las lesiones de otros sistemas, son las más probables de causar crisis epilépticas y están asociadas a una mayor incidencia de problemas conductuales interictales que las lesiones neocorticales. Además del rol preponderante en la formación de la memoria, el lóbulo temporal mesial participa en la modulación del afecto, las emociones y la motivación. La lesión de esta área cerebral muy probablemente sea un factor en el subsiguiente desarrollo de problemas en la conducta interictal. Los déficits cognitivos y problemas psiquiátricos asociados a la ELT son más graves cuando el daño es difuso ya que comprometen más funciones (Engel y Taylor, 1997). Cuando la lesión abarca al lóbulo frontal además del temporal, las habilidades cognitivas, como la planeación y la atención, están también disminuidas (Hermann, Seidenberg, Haltiner, y Wyler, 1991; Moore y Baker, 2002).

Otro factor neuropatológico que se ha tomado en consideración es la lateralización del foco. Las lesiones del hemisferio dominante se correlacionan con la producción de esquizofrenia, mientras que las lesiones del hemisferio no dominante se asocian a la presencia del trastorno maníaco-depresivo (Flor-Henry, 2003). Recientes investigaciones indican que las lesiones del hemisferio izquierdo están relacionadas con niveles elevados de ansiedad y depresión (Piazzini, Canevini, Maggiori, y Canger, 2001). Sin embargo, otros estudios han demostrado que la producción de estos dos trastornos no dependen de la lateralización del foco, aunque exista una mayor incidencia de los mismos en pacientes epilépticos comparado con otros pacientes con afecciones crónicas (Hermann y col., 1991; Quiske, Helmstaedter, Lux, y Elger, 2000; Tebartz van Elst, Woerman, Lemieux, y Trimble, 1999). Es importante mencionar que existen otros estudios los cuales sugieren la existencia de cambios neuropatológicos, como es un aumento en el volumen de la amígdala y/o esclerosis del lóbulo mesio-temporal, que acompañan a estados depresivos, independientemente de la lateralización de la lesión (Quiske y col., 2000; Tebartz van Elst y col., 1999).

Las funciones neuronales que son interrumpidas por lesiones progresivas probablemente inclinan la balanza hacia trastornos conductuales interictales comparados con las lesiones estáticas, ya que las últimas pueden activar procesos homeostáticos más fácilmente para reestablecer la función normal cerebral (Engel, 1989). En el contexto del desarrollo, es relevante la existencia de aberraciones en la migración y maduración neuronal en el inicio de la vida, ya que la existencia de factores que progresivamente modifican la función neuronal pueden dar paso a trastornos conductuales y a la epilepsia.

El tratamiento quirúrgico, ya sea la resección, la ablación o la desconexión interrumpe la integración neuronal y puede introducir nuevos trastornos neurológicos o psiquiátricos (Engel y Taylor, 1997). En Japón de 100 casos de pacientes con ELT que fueron sometidos a cirugía, únicamente 6 desarrollaron problemas psiquiátricos –un paciente desarrollo psicosis, 2 ansiedad generalizada y 3 depresión en diferentes presentaciones- (Mayanagi, Watanaba, Nagahori, y Nankai, 2001), y aunque no se reporta sí alguno de estos casos tenía algún trastorno previo a la cirugía además de la epilepsia, llama la atención que el 94% de los casos no haya desarrollado problemas psiquiátricos. Cuando la lobotomía anteriorotemporal es efectiva para controlar las convulsiones, los transtornos de la memoria, la agresión, la hiposexualidad y de relaciones interpersonales asociados a la epilepsia por lo general disminuyen (Engel y col., 1986).

Usualmente mejoras súbitas ocurren después de que cesan las crisis, esto indica de que muchos problemas en su forma de adaptarse al día a día que enfrentan los epilépticos son contingentes a su condición (Taylor, 1997). En conjunto, la evidencia de los estudios en pacientes epilépticos que fueron sometidos a cirugía sugiere que el o los focos epilépticos son los causantes de las alteraciones psiquiátricas en la epilepsia.

Alteraciones en la arquitectura del sueño y cambios en los niveles hormonales producidos por la epilepsia, han sido considerados como factores adicionales que pueden participar en las alteraciones conductuales interictales. Ciertos tipos de crisis producen cambios en la arquitectura del sueño, especialmente una reducción en el sueño MOR. La privación de sueño MOR puede producir o es un factor participante en las alteraciones conductuales incluyendo la psicosis y la depresión (Engel, 1989; Taylor, 1997). Por otro

lado, el estrógeno es epileptogénico y ansiogénico, en cambio la progesterona inhibe la propagación de las crisis y es ansiolítico. Se sabe que la testosterona tiene dos metabolitos que son el estradiol y la dihidrotestosterona, siendo sus efectos similares al estrógeno y a la progesterona, respectivamente, por lo que cambios en los niveles de estas hormonas debidos a la epilepsia pueden alterar la conducta (Herzog, 1999b; Herzog, 1999c; Herzog, 1999a).

1.4.3 Efectos del tratamiento

Todos los fármacos antiepilépticos (FAE) alteran las influencias excitatorias o inhibitorias y así, reducen la sincronización neuronal. Dichos procesos son críticos para el balance homeostático del cerebro. Sin embargo, no es sorprendente que la farmacoterapia se asocie a efectos secundarios y a la producción de trastornos psiquiátricos (Engel y Taylor, 1997).

Los efectos adversos relacionados a la dosis son los más comunes con los FAE, que usualmente ocurren en el inicio, con grandes dosis o polifarmacia. Entre estos efectos los más usuales son sedación, temblores, agitación/ ansiedad, visión borrosa, fatiga, concentración pobre aunada a una cognición interrumpida y disturbios en el humor (Boylan, Devinsky, Barry, y Ketter, 2002).

El efecto secundario adverso más común de los FAE es causar depresión. De hecho varios de los nuevos FAE, como por ejemplo la tiagabina, el topiramato y la vigabatrina, producen depresión a la par que suprimen las crisis (Trimble, 1997). Por el contrario, hay otros FAE con efectos ansiolíticos como la gabapentina y el valproato (Boylan y col., 2002).

En la actualidad los FAE, y en especial la carbamazepina, se utilizan para el tratamiento de trastornos psiquiátricos, en especial la depresión y el trastorno bipolar (Boylan y col., 2002). Aunque los mecanismos mediante los cuales los FAE producen estos efectos secundarios no se han dilucidado, se argumenta que en el caso de la ansiedad, el aumento en la neurotransmisión GABAérgica es el causante de sus efectos ansiolíticos (Marsh y Rao, 2002).

1.5 Ansiedad en modelos animales de epilepsia.

La búsqueda de modelos animales de epilepsia que simulen las alteraciones conductuales interictales en los humanos se inició con Adamec en 1976. Este autor reportó que gatos con "kindling" eléctrico parcial (las crisis son parciales debido a que se restringen a un grupo muscular) presentan una mayor respuesta emocional ante la presencia de ratones o al escuchar vocalizaciones de amenazas de conoespecíficos. Este efecto es bloqueado por la administración de dosis bajas de flumazenil, un antagonista benzodiazepínico. Es de interés que este efecto ansiolítico del fármaco únicamente se presenta en ratas con "kindling" parcial, sugiriendo un cambio en el funcionamiento de estos receptores asociado al fenómeno epiléptico (Adamec, 1990; Adamec, 1997; Adamec, 2001; Adamec y Young, 2000).

Usando el modelo de "kindling" en ratas, Caldecott-Hazard observó que los opioides están involucrados en la depresión postictal característica de las crisis generalizadas (Caldecott-Hazard y Engel, 1987). Por otro lado se ha descubierto que existe un área circundante al foco epiléptico inhibitoria que limita la propagación de la actividad epiléptica (Frost y col., 1988). En ella hay una regulación a la alta de receptores

μ , lo cual también se ha observado en el sistema límbico de personas adictas a opioides (Kling y col., 2000). Engel y Rocha sugieren que los cambios conductuales se podrían deber a un hipotético síndrome de abstinencia a los opioides (Engel y Rocha, 1992).

El pentilenetetrazol (PTZ) es un antagonista no competitivo a receptores GABA_A y ha sido utilizado como un modelo de ansiedad utilizándolo como un estímulo discriminativo (Jung, Lal, y Gatch, 2002). Contrario a lo que se esperaría, usando la prueba de miedo condicionado contextual se observa que los animales con "kindling" inducido por PTZ presentan efectos ansiolíticos (Szyndler y col., 2002; Lamberty y Klitgaard, 2000). Estos efectos se explican debido a que el PTZ produce necrosis en el hipocampo, cuya integridad es necesaria para la manifestación del miedo contextual condicionado (LeDoux, 2000). También se han reportado cambios ansiogénicos asociados al "kindling" con PTZ (Franke y Kittner, 2001). Las razones por las cuáles existe esta contradicción aún no han sido resueltas.

Los fármacos que facilitan la neurotransmisión GABAérgica típicamente son ansiolíticos, y los que la inhiben son ansiogénicos (Snyder, 1996). Se puede inferir entonces que una disminución en la neurotransmisión GABAérgica está relacionada a crisis convulsivas y a ansiogénesis (Trimble, 2002). Apoyando este último argumento, se ha observado que los ratones GAD65¹ -/- (Ratones en los que se eliminó el gen que expresa esta enzima mediante la técnica de knock out) tienen convulsiones espontáneas o inducidos por situaciones nuevas (estresantes) (Kash y col., 1997). Estos animales se muestran ansiosos en dos paradigmas: la prueba de espacio abierto y el laberinto en cero

¹ La GAD65 es una de las dos isoformas de la enzima ácido- γ -butírico descarboxilasa, que al descarboxilar el glutamato sintetiza el ácido- γ -butírico o GABA. -/- es una convención para indicar que se han eliminado en ambos progenitores el ADN que codifica la proteína de interés, por lo tanto son animales homocigóticos, al contrario de los +/- que son heterocigóticos.

elevado. Su respuesta al ansiolítico y agonista benzodiazepínico Diazepam está disminuida, en cambio la respuesta al Muscimol, un ansiolítico y agonista GABAérgico que ejerce su efecto sin la necesidad de la presencia de GABA, es normal (Kash, Tecott, Hodges, y Baekkskoz, 1999). Por lo tanto el GABA que sintetiza la enzima GAD65 es importante para mantener el balance eléctrico del cerebro y para responder de manera normal ante situaciones que producen ansiedad.

Existe una gran cantidad de datos que indica que la serotonina (5-HT) funciona como neurotransmisor anticonvulsivo (Dailey y Naritoku, 1996), y su participación en los desórdenes neuropsiquiátricos específicamente la depresión, la ansiedad y el trastorno obsesivo-compulsivo es ampliamente aceptada (Blier y de Montigny, 1999). Los ratones 5-HT_{1A}^2 $-/-$ son ansiosos (Parks, Robinson, Sibille, Shenk, y Tóth, 1998; Ramboz y col., 1998; Heisler y col., 1998), demostrado en las pruebas de campo abierto, laberinto en cruz abierto, actividad en la caja-hogar, laberinto en cero elevado y neofobia. Estos ratones no tienen cambios en los niveles de 5-HT cerebrales (Parks y col., 1998). Posteriormente, se demostró en estos ratones que la ansiedad no se revierte por el tratamiento benzodiazepínico y que la administración de AK induce una disminución en la latencia a presentar crisis y un aumento en la mortalidad (Sarnyai y col., 2000). Lo anterior sugiere que la neuromodulación de la 5-HT es importante para mantener la excitabilidad neuronal y la ansiedad en niveles normales, pero que no necesariamente van a existir cambios en los niveles de 5-HT cerebrales.

El “kindling” eléctrico es hasta el momento el único modelo animal que se ha estudiado a fondo de cambios afectivos interictales, pero la ELT se puede manifestar en

² El 5-HT_{1A} es un receptor membranal que pertenece a la familia de receptores acoplados a proteínas G, su agonista natural es la serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT), y su activación resulta en una hiperpolarización de la membrana y una disminución en la excitabilidad neuronal.

diversas maneras, de hecho Adamec refiere que no hay evidencia clara de que el “kindling” suceda en humanos y en varios casos de crisis parciales en humanos se caracterizan por daño en el lóbulo temporal (Adamec, 1990). El modelo de ELT de AK hasta el momento no se ha estudiado como modelo de trastornos conductuales asociados a la epilepsia, este podría mostrarse útil para el futuro discernimiento de los mecanismos biológicos involucrados.

1.6 Planteamiento del problema

Los antecedentes históricos, la evidencia clínica y la experimental señalan que existe una relación entre la epilepsia, en especial de la ELT, con trastornos psiquiátricos como la ansiedad y el trastorno obsesivo-compulsivo. La expansión de este campo se ha visto limitado por la relativa falta de estudios en modelos experimentales, que podrían proveer las herramientas suficientes para aclarar la naturaleza biológica de esta asociación y abrir el camino para intervenciones preventivas y terapéuticas exitosas. Por lo que el presente estudio se diseñó para contestar la siguiente pregunta: ¿La administración de AK puede inducir alteraciones conductuales asociadas a las diferentes etapas de epileptogénesis?

1.6.1 Hipótesis

Ho. La inducción de crisis límbicas por la administración de AK intraperitoneal en ratas Wistar macho adultas no modificará la respuesta de ansiedad y conducta compulsiva evaluadas a lo largo del tiempo mediante la prueba de enterramiento y de alternancia espontánea en un laberinto en T, respectivamente.

Hi. La inducción de crisis límbicas por la administración de AK intraperitoneal en ratas Wistar macho adultas aumentará la respuesta de ansiedad y aumentará la conducta

compulsiva evaluadas a lo largo del tiempo mediante la prueba de enterramiento y de alternancia espontánea en un laberinto en T, respectivamente.

1.6.2 Objetivo General

Investigar si existe una relación entre el modelo de AK de ELT y los cambios en la ansiedad y la conducta compulsiva de los sujetos experimentales.

1.6.3 Objetivos específicos

1. Evaluar si en diferentes etapas de la epileptogénesis inducida por la administración de AK i.p. se modifica en diferente grado la conducta ansiosa de los sujetos experimentales.
2. Evaluar si en diferentes etapas de la epileptogénesis inducida por la administración de AK i.p. se modifica en diferente grado la conducta compulsiva de los sujetos experimentales.

2. Método

2.1 Sujetos

Los sujetos experimentales fueron ratas Wistar macho adultas, con un peso corporal de 250 a 300 g. al inicio del estudio. Los animales se alojaron en cajas individuales y se mantuvieron en el ciclo normal de luz / oscuridad de 12 horas con las luces encendidas a las 7:00 AM. Los animales tuvieron acceso *ad libitum* a agua y comida, excepto en el protocolo concerniente a la prueba de laberinto en T, en donde no tuvieron acceso a alimento en el segundo y tercer día de la prueba. Cada sujeto recibió una inyección diaria de solución salina (1 ml/kg, i.p.) durante siete días antes de la administración de AK para habituarlos a la manipulación y así reducir el estrés inducido por la inyección.

2.2 Materiales e instrumentos

2.2.1 Prueba de Enterramiento Condicionado

El aparato de enterramiento del electrodo se utiliza para evaluar el grado de ansiedad en ratas y ratones (Treit, Pinel, y Fibiger, 1981). Consiste en una caja individual convencional de albergue de ratas (27 x 17 x 15 cm.), cubierta con una capa pareja de aproximadamente 5 cm. de material de cama (viruta). El poste electrificado consiste en un poste de 7 cm. de largo por 0.5 cm de diámetro, embobinado por dos alambres de cobre por los que se aplica corriente eléctrica proporcionada por una fuente constante calibrada a 3mA. El poste se inserta en un agujero de la caja, aproximadamente 2 cm. por encima de la cama. Debido a que las ratas viven en este tipo de cajas están habituadas a sus condiciones.

El día de la prueba inicialmente se les colocó de espalda al poste y durante 10 min. se registraron las siguientes conductas: latencia a enterrar el electrodo (LE), tiempo enterrando el electrodo (TE), tiempo haciendo "rearing" (TR) y número de choques recibidos (CH). El enterrar el electrodo se definió como la acción mecánica de empujar el material de cama hacia el poste. Los choques son recibidos al tocar el poste con las extremidades o la nariz. "Rearing" se define como la conducta de pararse sobre las dos extremidades posteriores y comúnmente apoyar las extremidades anteriores en alguna pared de la caja, se le utilizó como un índice de actividad motora.

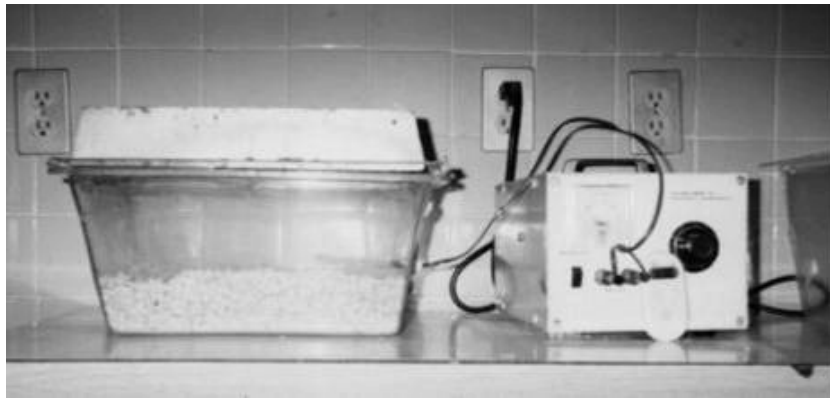


Figura 1. Aparato para la prueba de enterramiento condicionado.

2.2.2 Prueba de Alternancia Espontánea o PAE

El laberinto en T está fabricado de plástico opaco de fácil limpieza, cada caja meta está marcada por diferentes claves visuales. Los tres brazos miden 50 x 10 x 13 cm. Unas guillotinas separan el brazo de salida de los brazos meta, en estos últimos se colocó un pequeño vaso en donde el animal encontraba alimento.

En el primer día, los animales se habituaron a explorar todo el laberinto durante 20 minutos. De regreso a su caja-albergue, se les expuso como único alimento al arroz inflado y endulzado (Choco-Krispis, *Kellogs®*) para eliminar la neofobia. En el segundo día, cada animal se confino a cada brazo durante 5 min. en los que encuentra alimento

endulzado. La rotación del animal por los brazos siguió una dirección contraria al movimiento de las manecillas del reloj empezando en el brazo de salida o sur. A partir de este día los animales no tuvieron acceso a alimento hasta el final del protocolo.

Las ratas y los ratones normales tienden a visitar lugares que desconocen (Gerlai, 2001). La prueba de alternancia espontánea aprovecha esta situación al asumir que si en un laberinto un animal persevera su decisión (i.e. no visita otros brazos), este es un signo de compulsión y se le llama perseverancia (Yadin, Friedman, y Bridger, 1991). Durante el tercer día, el de prueba, se colocó a cada rata en el brazo de salida y se registro que brazo visitó, permitiéndole ingerir el alimento endulzado. Después se le colocó en una caja de restricción durante 10s. para permitir la limpieza de todo el laberinto con una solución de alcohol al 30%. Este proceso se repitió hasta 8 ensayos o hasta que alternaron su decisión o que en un turno tardaran más de 90 s. en tomar una decisión.

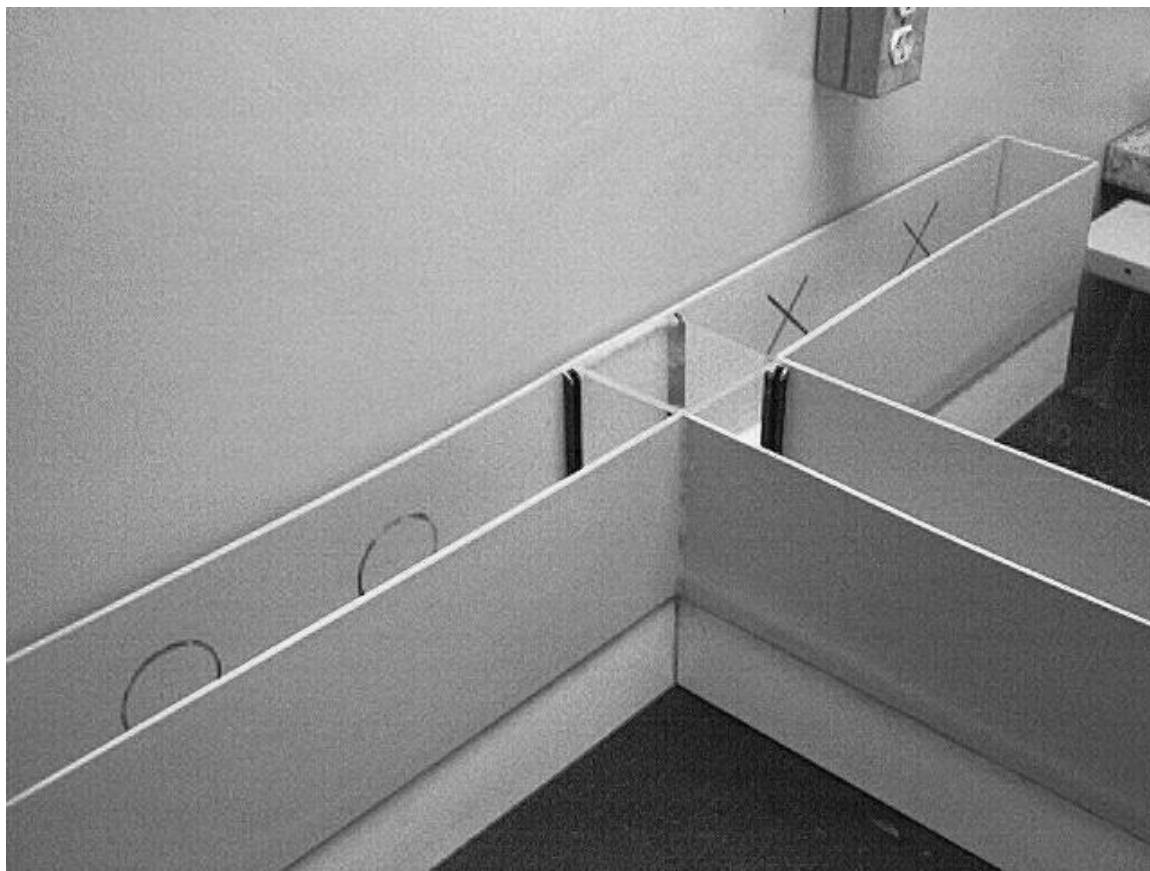


Figura 2. Laberinto en T utilizado en la PAE.

2.2.3 Fármacos utilizados

El AK (Sigma, San Luis, MO) se disolvió en salina y se administró en una dosis de 9 mg/kg i.p., en un volumen total de 1 ml/kg. Después de la inyección, los animales se observaron continuamente durante 3:30 horas. Se registro la latencia de los cambios conductuales de acuerdo a la siguiente escala (Lothman, Collins, y Ferrendelli, 1981):

- I. Mirada fija/ disminución de la conducta de exploración
- II. Sacudidas de perro mojado
- III. Automatismos y convulsiones límbicas moderadas
- IV. Convulsiones límbicas severas

El SE sé determino por la presencia de crisis límbicas repetidas a intervalos de al menos 3 minutos, durante 30 minutos o más.

2.3 Procedimientos

2.3.1 Experimento 1. Contrabalanceo del diseño experimental

Este experimento se diseñó para conocer si había algún efecto en el orden en que eran sometidos los animales ingenuos experimentalmente a las pruebas conductuales.

2.3.1.1 Grupos Experimentales.

- a) **Grupo T+E n=8.** Este grupo se entrenó en la prueba de laberinto en T durante los primeros tres días como es descrito en el apartado 2.2.2, y después a la prueba de enterramiento como es descrita en el apartado 2.2.1.
- b) **Grupo E+T n=7** Este grupo se sometió primero a la prueba de enterramiento y después a la prueba de laberinto en T.

2.3.2 Experimento 2. Análisis del efecto del AK en la ansiedad y conducta compulsiva

Este experimento se diseñó para saber si indifferentes momentos asociados a la epileptogénesis inducida por el AK, se presentan cambios en la conducta ansiosa o compulsiva en ratas experimentalmente ingenuas.

2.3.2.1 Grupos Experimentales

Los animales experimentales se dividieron en tres grupos para abarcar tres etapas que caracterizan al modelo de AK de ELT (apartado 1.2.1.1).

- a) **Grupo AK7 (n=15).** Las ratas recibieron la administración de AK y se evaluó la producción de SE. Siete días después, las ratas se sometieron a la prueba de enterramiento para determinar el grado de ansiedad. Durante los 3 días

subsiguientes (8, 9 y 10 días después de la administración de AK), se les sometió a la prueba de laberinto en T para evaluar la conducta de alternancia o compulsividad.

- b) **Grupo AK28 (n=15).** Los animales siguieron el mismo tratamiento que el descrito para el AK7, excepto que las pruebas conductuales iniciaron a los 28 días después de la administración de AK.
- c) **Grupo AK150 (n=20).** Las ratas se manipularon de acuerdo a descrito para el grupo AK7, excepto que las pruebas conductuales iniciaron a los 150 días después de la administración de AK.

Se excluyeron del presente estudio a los animales que no presentaron SE después de la administración de AK. Para cada grupo experimental se realizó paralelamente un grupo control, el cuál se manipulo de acuerdo a lo descrito anteriormente, excepto que el día de la administración de AK se le administró Solución Salina (SS) al 0.9%; (SS7 n=9, SS28 n=7, SS150 n=13).

2.4 Análisis Estadístico

2.4.1 Análisis estadístico del experimento 1

En el primer experimento se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía para el análisis estadístico de las variables paramétricas (TE, LE y TR) seguida de la prueba Tukey “honest significant differences” HSD *post hoc*. La prueba U de Mann-Whitney se utilizó para el análisis de las variables no paramétricas (CH y número de perseverancias en el laberinto en T).

2.4.2 Análisis estadístico del experimento 2

Para determinar diferencias significativas en la evolución de la presentación de las crisis dependiente del grupo al que pertenece el sujeto se utilizó un ANOVA de una vía, con tres niveles (AK7, AK28, AK150) seguida de la prueba Tukey HSD *post hoc*

En el segundo experimento se usó una ANOVA de dos vías para cada una de las variables paramétricas: TE, LE y TR. El ANOVA de dos vías consiste en la comparación de las varianzas de los diferentes grupos tomando en cuenta los factores del diseño experimental. En el caso de este experimento hubo dos factores (Momento de Evaluación y Tratamiento), por lo que se obtuvieron tres valores (F), los que correspondieron al momento de evaluación, al tratamiento y a la interacción de estos dos últimos. Cada factor se conformó por diferentes niveles o grupos. En el caso del momento de evaluación existieron tres grupos: 7, 28 y 150 días. Para el factor tratamiento hubo dos niveles: solución salina y AK (Tabla 2). Cuando el valor del estadístico F fue significativo, se realizaron comparaciones múltiples, para lo cual se utilizó la prueba *post hoc* Tukey HSD. Se realizaron comparaciones dentro de cada factor (intrafactorial). Por ejemplo, para el factor tratamiento se sumaron todos los valores del tratamiento con AK (los grupos AK7, AK28 y AK150) y se compararon con la suma de los valores de los grupos con el tratamiento SS (los grupos SS7, SS28 y SS150). También se realizaron comparaciones dentro del mismo factor considerando un nivel de otro factor (interfactorial). Por ejemplo, se compararon los valores de AK7 contra los de AK28, en donde los dos pertenecen al mismo nivel –AK– de un factor –tratamiento–. En el caso de las variables no paramétricas (CH, perseverancia) se usó el estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis seguido de la U de Mann-Whitney para determinar diferencias

significativas entre los efectos de los factores y de sus niveles. En todos los casos se consideró un $\alpha=0.05$. Los valores se representan como promedios \pm error estándar.

| Tabla 2. Diseño estadístico del experimento 2. | | | | | | |
|---|-----------------------|------------------------|----|----|----|-----|
| Variables independientes | | Variables dependientes | | | | |
| Factores | | TE | LE | TR | CH | Rep |
| Tratamiento | Momento de evaluación | | | | | |
| AK | 7 días | | | | | |
| | 28 días | | | | | |
| | 150 días | | | | | |
| SS | 7 días | | | | | |
| | 28 días | | | | | |
| | 150 días | | | | | |

3 Resultados

3.1 Experimento 1. Contrabalanceo del diseño experimental

Los grupos E+T y T+E no difirieron de manera significativa estadísticamente en las conductas evaluadas en la prueba de enterramiento condicionado y en el laberinto en T, como se puede observar en la tabla 3. Estos resultados indican que el orden en que se somete a los animales a la prueba de enterramiento condicionado y de alternancia espontánea no influye en la conducta en la siguiente prueba.

| Tabla 3. Valores de las conductas evaluadas en las pruebas de enterramiento y de alternancia espontánea en ratas normales | | | | | |
|--|----------------|---------------|---------------|-----------|------------|
| | LE | TE | TR | CH | Rep |
| Grupo E+T | 312.38 ± 79.24 | 68.5 ± 30.19 | 94.5 ± 24.5 | 1.5 | 1.5 |
| Grupo T+E | 260 ± 90.42 | 91.43 ± 34.13 | 66.86 ± 26.86 | 2 | 1 |
| Probabilidad | 0.67 | 0.62 | 0.24 | 0.22 | 0.3 |

Abreviaciones, LE: Latencia a enterrar, TE: Tiempo enterrando el electrodo, TR: Tiempo en "rearing", CH: Número de choques recibidos, Rep: Repeticiones en el laberinto en T. Los valores representan la media ± EEM.

Con base en estos resultados, y por razones logísticas se prefirió que para el experimento 2, se siguiera el orden ET, es decir, primero la prueba de enterramiento seguida de la prueba de alternancia espontánea

3.2 Experimento 2. Análisis del efecto del AK en la ansiedad y conducta compulsiva

3.2.1 Conducta convulsiva después de la administración de AK.

La administración de AK i.p. produjo actividad epiléptica y cambios conductuales que se resumen en la figura 4. Los animales de los tres grupos experimentales que presentaron SE después del AK, se mantuvieron en él en un promedio de 140 ± 25

minutos. En cuanto a la latencia a presentar las diferentes fases inducidas por el AK, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos (Tabla 4).

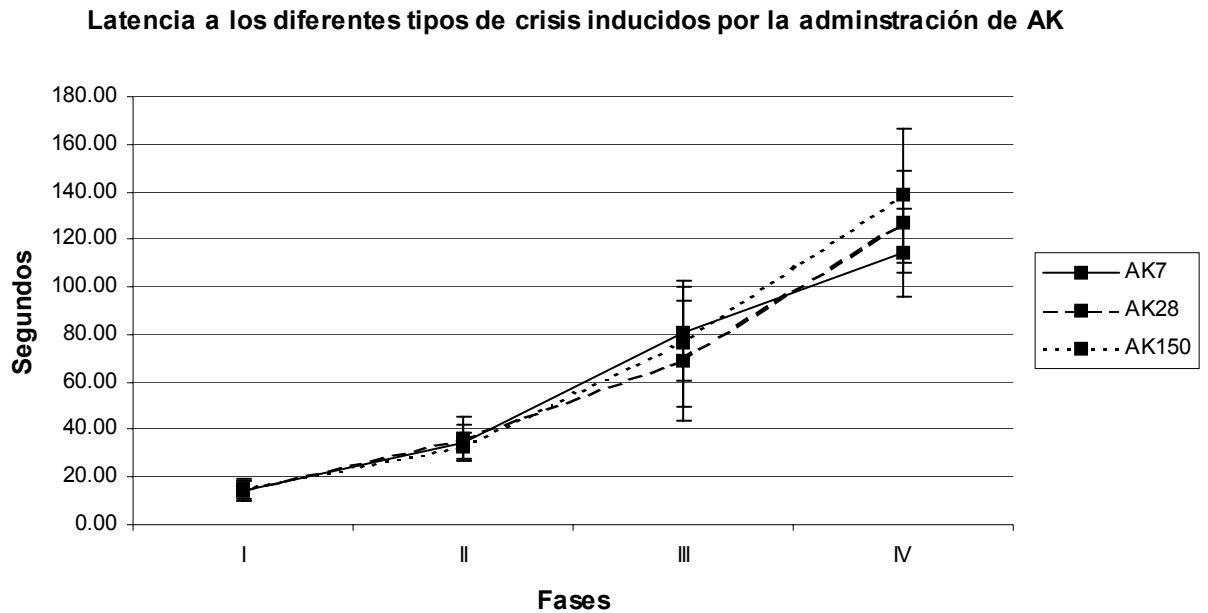


Figura 1. Latencia en segundos a presentar las diferentes fases inducidas por la administración de AK según Lothmann y Collins (1981), de los tres grupos experimentales. Los valores se representan en media \pm el error estándar. No se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 4. Valores de la latencia a las fases convulsivas después del AK

| | AK 7 | AK 28 | AK 150 | GL | F | P |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|-------|-------|-------|
| Fase I | 23 \pm 1 | 20 \pm 2.1 | 19 \pm 1 | 2, 45 | 0.125 | >0.05 |
| Fase II | 33 \pm 3 | 37 \pm 2.8 | 36 \pm 5.4 | 2, 44 | 0.342 | >0.05 |
| Fase III | 75 \pm 7 | 83 \pm 11 | 79 \pm 10 | 2, 40 | 0.51 | >0.05 |
| Fase IV | 140 \pm 22 | 130 \pm 15 | 115 \pm 16 | 2, 34 | 3.643 | >0.05 |

Abreviaturas. GL: Grados de libertad.

Durante la manipulación de los animales tratados con AK durante las pruebas conductuales se observó conducta motora explosiva y dificultad para ser manipulados. Los animales lanzaban ataques con el hocico hacia la mano que las sostenía.

3.2.2 Epilepsia y Conducta en el grupo AK7

Del grupo AK7, dos animales (13%) no presentaron SE y uno falleció al día siguiente de la administración del AK, por lo que finalmente este grupo se conformó por 12 animales.

Durante la realización de la prueba de enterramiento, los animales de este grupo enterraron el electrodo durante significativamente menos tiempo (2.08 ± 1.51 s.) comparado con su grupo control (SS7) (116.66 ± 31.10 s.; $q_2=4.79$, $p<0.05$) (Fig. 5). Los valores para la LE del grupo AK7 fueron significativamente mayores (572.25 ± 24.66 s.) que los obtenidos del grupo SS7 (195.33 ± 30.70 s.; $q_2=9.23$, $p<0.05$, Fig. 6). En cuanto a TR (Fig. 7), el grupo AK7 (56.5 ± 14.05 s.) no fue diferente a su control SS7 (56 ± 9.22 s.) (Ver apartado 3.2.4). Con respecto a CH, los valores de ambos grupos no difirieron estadísticamente (AK7, 2.83 ± 0.46 ch.; SS7 3.11 ± 0.45 ch.; $U=41$, $p>0.05$; Fig. 8).

En el laberinto en T, el grupo AK7 alternó sus visitas a los brazos meta con la misma frecuencia que su grupo control (AK7, 1.0 ± 0.43 rep Vs. SS7 0.22 ± 0.15 rep; $U=36$, $p>0.05$; Fig. 9).

3.2.3. Epilepsia y Conducta en el grupo AK28

En el grupo AK28, el 27% de los animales no presentaron SE, el restante 27% fallecieron en el intervalo entre la administración del fármaco y el momento de evaluación. Debido a lo anterior, el grupo AK28 se conformó finalmente por 7 ratas.

En la prueba de enterramiento, el grupo AK28 en TE fue estadísticamente menor (12.28 ± 12.29 s.) que su grupo control (SS28, 116.66 ± 61.08 s.; $q_2=8.53$, $p<0.05$; Fig.

5). La LE aumentó significativamente en el grupo AK28 comparado con su grupo control (AK28 553.57 ± 46.43 s. Vs. SS28 122 ± 43.76 s.; $q_2=8.72$, $p<0.05$; Fig. 6). CH fue estadísticamente mayor para las ratas tratadas con AK (5 ± 0.95 ch) comparadas con su grupo control (SS28, 2.14 ± 0.4 ch; $U=6.5$, $p<0.05$; Fig. 8).

En el número de perseverancias en el laberinto en T el grupo AK28 (1.14 ± 0.59 rep) no difirió estadísticamente al grupo SS28 (0.86 ± 0.55 rep; $U=22.5$, $p>0.05$; Fig. 9).

3.2.4 Epilepsia y Conducta en el grupo AK150

En el grupo AK150 un animal no presentó SE y 30% de los animales fallecieron durante el intervalo entre la administración del fármaco y el momento de la evaluación. Por lo tanto, 12 ratas conformaron el grupo AK150.

Durante la prueba de enterramiento el TE fue estadísticamente menor (12.07 ± 3.83 s.) que los animales del grupo SS150 (148.41 ± 22.30 s., $q_2=6.28$, $p<0.05$; Fig. 5). La LE fue mayor en el grupo AK150 que su control (AK150, 458.84 ± 60.62 s. Vs. SS150, 79.75 ± 10.58 s.; $q_2=10.23$, $p<0.05$; Fig. 6). En cuanto a CH, no se observaron diferencias entre ambos grupos (AK150, 3.67 ± 1.11 ch Vs. SS150, 2.15 ± 0.32 ch; $U=68.5$, $p>0.05$; Fig. 8).

En la conducta de perseverancia en la alternación en el laberinto en T, los valores obtenidos del grupo AK150 (0.83 ± 0.44 rep) no fueron significativamente diferentes a los del grupo control (SS150, 0.46 ± 0.18 rep; $U=76$, $p>0.05$; Fig. 9).

3.2.5 Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de las variables en las pruebas de enterramiento condicionado y de alternancia espontánea

3.2.5.1 Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de TE

En el TE se observaron diferencias en el factor momento de evaluación ($F_{2,54}=4.281, p<0.05$), el tratamiento utilizado ($F_{1,54}=65.959, p<0.05$) y en el estadístico que evalúa la interacción de los factores ($F_{2,54}=3.436, p<0.05$).

Sin tomar en cuenta el momento de evaluación, los animales que fueron tratados con AK enterraron significativamente menos que los animales con SS ($q_2=11.486, p<0.05$). Únicamente los grupos que fueron evaluados a los 7 días enterraron significativamente menos que los animales evaluados a los 28 días ($q_3=4.076, p<0.05$). Los animales evaluados a los 150 días en conjunto no fueron diferentes de los otros grupos (*Vs. 7 días* $q_3=1.293, p>0.05$ y *Vs. 28 días* $q_3=3.077, p>0.05$). El TE no fue diferente entre los grupos tratados con AK (*28 Vs. 7 días*, $q_3=0.396, p>0.05$)¹. En cambio dentro del tratamiento con SS, el grupo SS28 es estadísticamente diferente a los otros dos grupos (*Vs. SS8*, $q_3=5.232, p>0.05$; *Vs. SS150*, $q_3=4.312, p<0.05$), aunque entre estos últimos no hubo diferencias ($q_3=1.328, p>0.05$) (Fig. 5).

¹ La media de AK28 es la más alta y la de AK7 es la más baja, por lo que engloban a la media de AK150. Como no son diferentes estadísticamente no es necesario hacer más comparaciones.

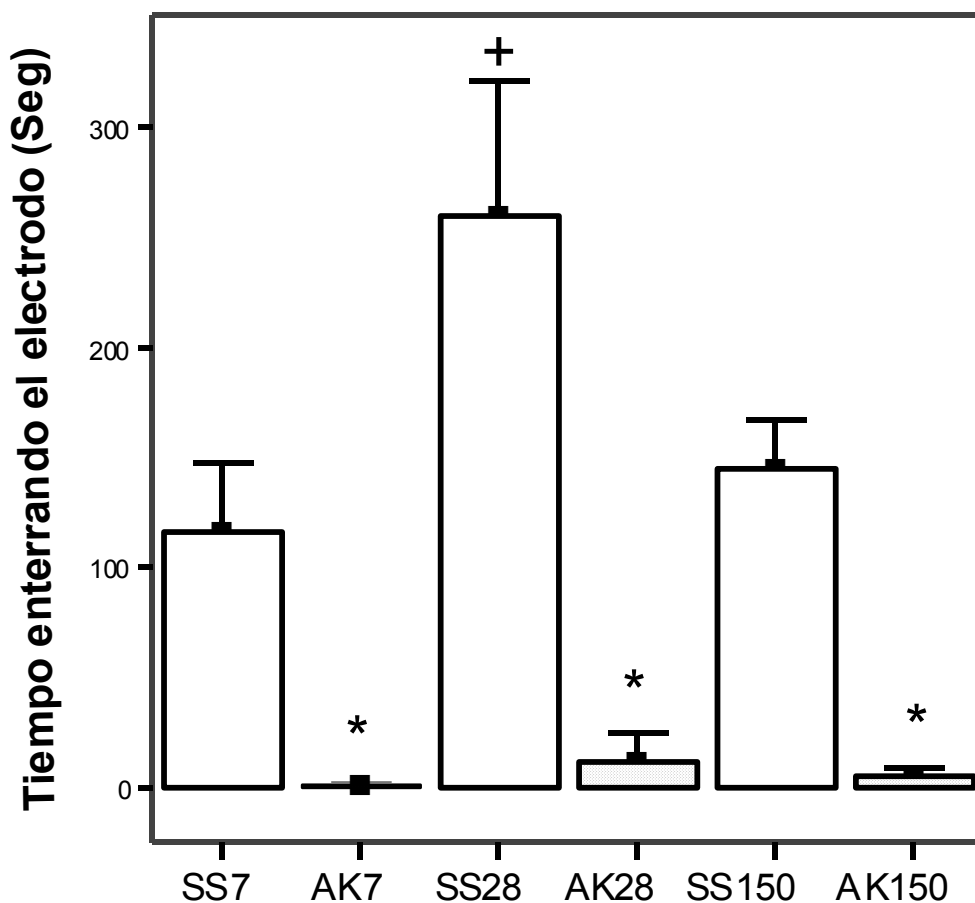


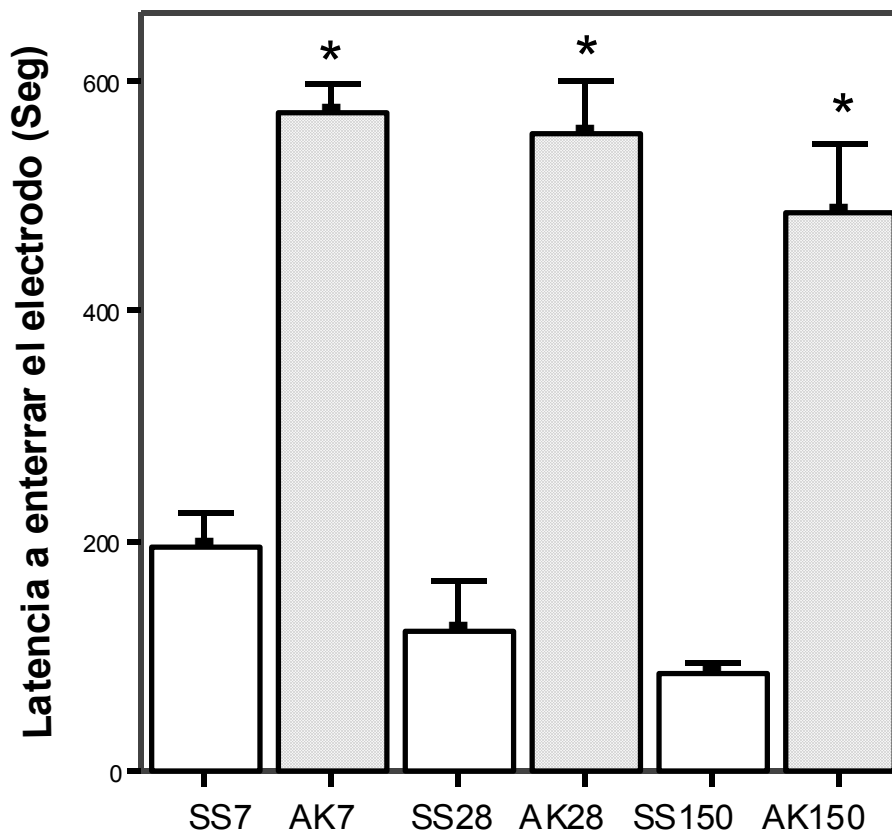
Figura 2. Tiempo en segundos enterrando el electrodo (TE) durante la prueba de enterramiento. Los valores se representan en media \pm error estándar. * equivale a que este grupo es significativamente diferente a su respectivo grupo control ($p < 0.05$), + significa que este grupo es diferente al resto de grupos bajo el mismo tratamiento ($p < 0.05$).

3.2.5.2 Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de LE

En cuanto a LE, se observaron diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento ($F_{1,54}=128.635$, $p < 0.05$), y al momento de evaluación ($F_{2,54}=4.405$, $p < 0.05$) pero no se detectaron diferencias en la interacción de los factores ($F_{2,54}=0.224$, $p > 0.05$). La LE está significativamente aumentada en los animales a los que se les

administró AK independientemente del momento en que fueron evaluados ($q_2=16.04$, $p<0.05$).

Se observaron diferencias significativas cuando la evaluación se realizó a los 7 días comparada con los 150 días, independientemente del tratamiento ($q_3=4.156$, $p<0.05$) (7 días Vs. 28 $q_3=1.435$, $p>0.05$; 28 Vs. 150 días $q_3=2.217$, $p>0.05$). Comparando únicamente los grupos tratados con AK, no se observaron diferencias (7 Vs. 150 días $q_3=3.062$, $p>0.05$)², al igual que los grupos tratados con SS (7 Vs. 150 días $q_3=2.833$, $p>0.05$) (Fig. 6).



² En este caso también es la comparación de las medias extremas, y debido a que no son diferentes no es necesario incluir la que falta.

Figura 3. Latencia a enterrar en segundos (LE) el electrodo durante la prueba de enterramiento. Los valores se representan en media \pm error estándar. * significa que este grupo es diferente a su respectivo control ($p < 0.05$).

3.2.5.3 Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de TR

El TR no fue diferente en alguna comparación. No se observó efecto del tratamiento ($F_{1,54} = 1.907$, $p > 0.05$), como tampoco del momento de evaluación ($F_{2,54} = 1.542$, $p > 0.05$). Finalmente, tampoco se observaron diferencias en la interacción de los factores ($F_{2,54} = 0.483$, $p > 0.05$). Debido a estos resultados, no se realizaron comparaciones múltiples subsecuentes (Fig.7).

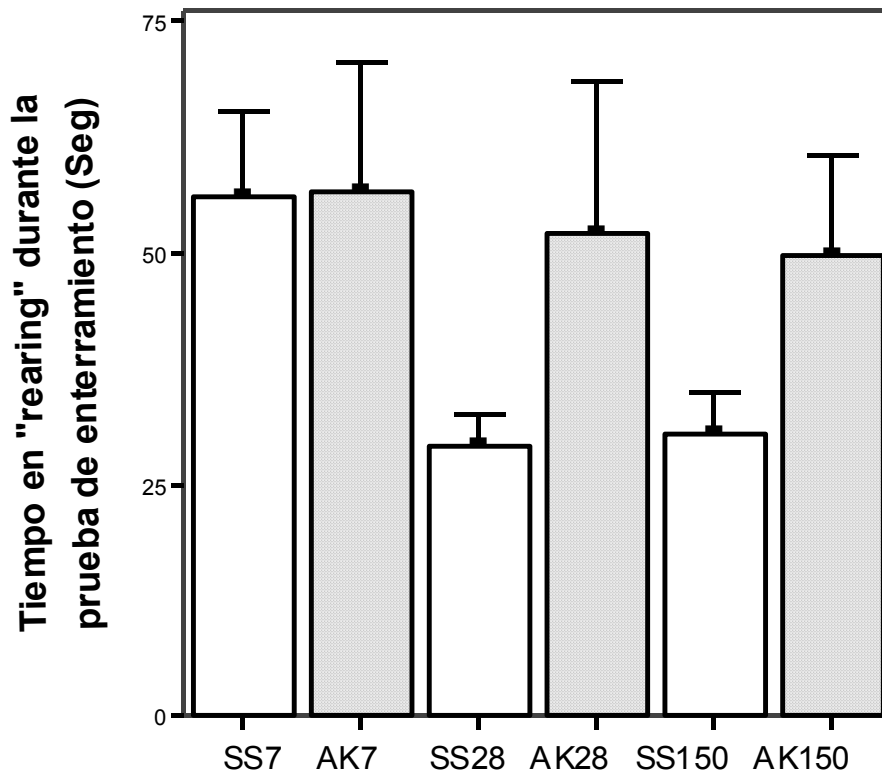


Figura 4. Tiempo en "rearing" durante la prueba de enterramiento. Los valores es en segundos se representan en media \pm error estándar.

3.2.5.4 Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales de CH

El número de choques que en total recibieron los animales con AK no es significativamente diferente al de los animales control independientemente momento de evaluación ($H_1=1.619$, $p>0.05$). El momento de evaluación independientemente del tratamiento tampoco produjo efectos significativos en CH ($H_2=2.287$, $p>0.05$). El ANOVA de Kruskal-Wallis comparando todos los grupos tampoco encontró alguna diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($H_5=9.341$, $p>0.05$) (Ver Fig. 8).

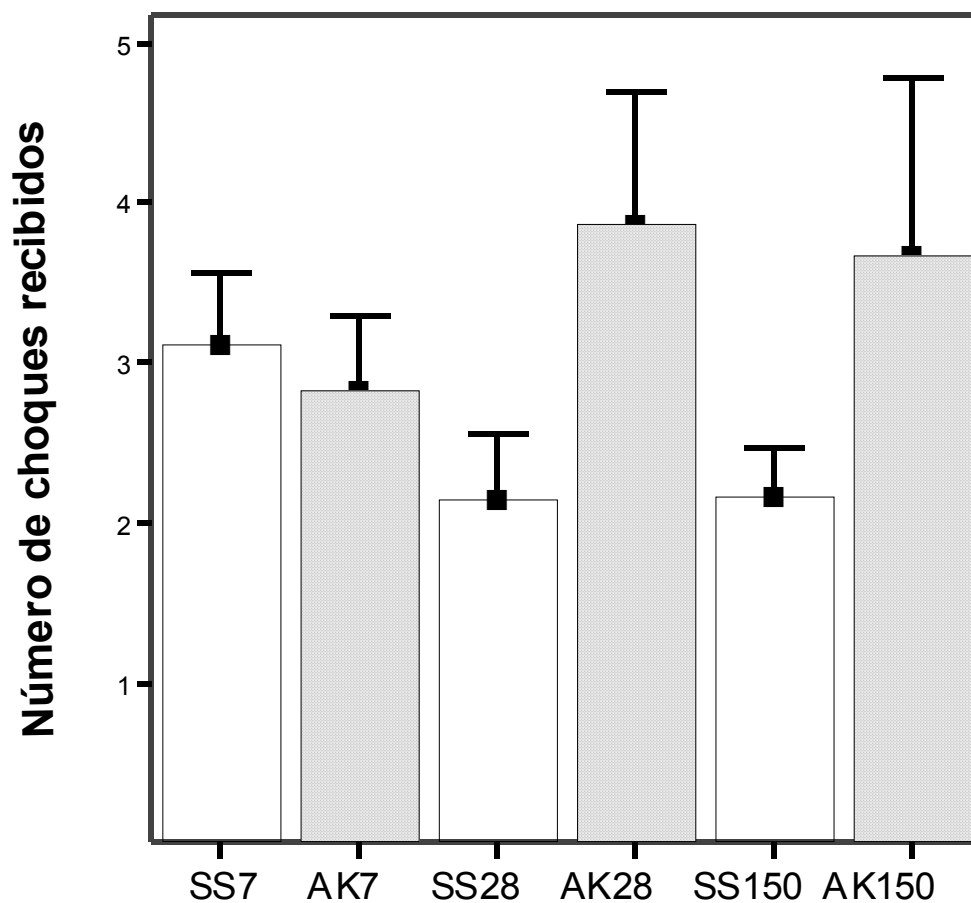


Figura 5. Número de choques recibidos durante la prueba de enterramiento. Los valores se representan en media \pm error estándar.

3.2.5.5 Comparaciones interfactoriales e intrafactoriales en la PAE

No se observaron diferencias en la PAE al comparar todos los grupos ($H_5=2.691$, $p<0.05$). Los grupos tratados con AK mostraron valores similares en el número de perseverancias que aquellos que recibieron SS (*AK Vs. SS* $H_1=1.223$, $p>0.05$). Tampoco la comparación del momento de evaluación produjo alguna diferencia significativa (*7 Vs. 28 Vs. 150 días* $H_2=1.223$, $p>0.05$) (Fig. 9).

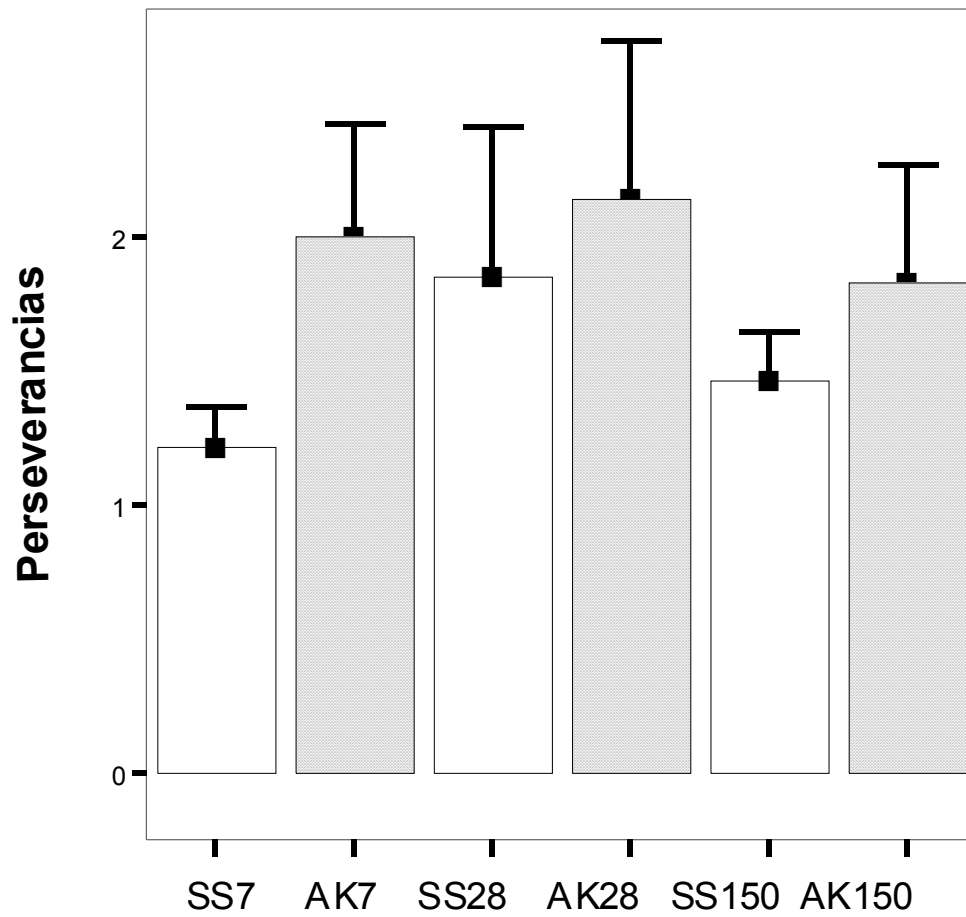


Figura 6. Número de repeticiones en la prueba de alternancia espontánea. Los valores se representan en media \pm error estándar.

4 Discusión

En el presente estudio encontramos que los animales que fueron tratados con AK en la prueba de enterramiento defensivo condicionado están ansiolizados. La conducta compulsiva no se modificó por el AK. Se discuten cuáles son los probables sitios anatómicos y sus respectivos neurotransmisores responsables de estos cambios conductuales.

4.1 Conducta de enterramiento post AK

El tiempo enterrando el electrodo (TE) en la prueba de enterramiento es el parámetro más importante para determinar el grado de ansiedad ya que una disminución indica ansiólisis y un aumento comparado con el grupo control ansiogénesis (Treit y col., 1981). En el presente estudio se encontró que los animales presentan disminución en el TE a los 7, 28 y 150 días después de haber presentado estatus epiléptico por AK. La carencia de cambios significativos en los diferentes momentos de evaluación sugiere que los cambios plásticos y mecanismos que originan la ansiólisis post-AK son independientes del grado y el proceso de epileptogénesis. Aunque en el presente estudio se analizó la conducta de ansiedad a tiempos específicos (7, 28 y 150 post AK), es posible suponer que los cambios observados son estables, debido a que la conducta en la prueba no varía significativamente a lo largo del tiempo.

Con base en los reportes de otros autores, se esperaba que los animales con AK estuvieran ansiosos. Sin embargo, se observó ansiólisis a los diferentes tiempos evaluados. De manera semejante, se ha reportado una disminución en la ansiedad en ratas con “kindling” químico inducido por PTZ aplicando las pruebas de laberinto en cruz elevado y condicionamiento clásico de miedo (Szyndler y col., 2002; Lamberty y

Klitgaard, 2000). Contrariamente, se ha reportado aumento de las conductas ansiosas en ratas “kindleadas” con PTZ exponiéndolas a olor de gato y en la prueba de laberinto en cruz elevado (Franke y Kittner, 2001). Las discordancias en los resultados obtenidos en la prueba de laberinto en cruz elevado pueden deberse a que Franke y Kittner (2001) aplicaron además otras pruebas de ansiedad en el mismo animal, por lo que la manipulación repetida del sujeto experimental pudo haber contaminado la respuesta ansiosa. Por el contrario, en el estudio de Lamberty y Klitgaard (2000) los animales se probaron una sola vez, evitando posibles artefactos debido a la experiencia.

Contrariamente a lo observado en el presente estudio en ratas tratadas con AK, ratas con “kindling” eléctrico muestran más ansiedad que los animales “sham” o sin epilepsia, aplicando las pruebas de vocalización ultrasónica, exposición a gatos (Adamec, 1990; Adamec, 2001), prueba de interacción social (Helfer, Deransart C., Marescaux, y Depaulis, 1996), laberinto en cruz elevado (Helfer y col., 1996; (Kalynchuk y col., 2001; Kalynchuk y col., 1998; Kalynchuk y col., 1998; Kalynchuk, Pinel, Treit, Kippin, y Kippin, 1997) y resistencia a captura (Kalynchuk y col., 2001; Kalynchuk y col., 1998; Kalynchuk y col., 1998; Kalynchuk y col., 1997).

Aunque los modelos de AK y de “kindling” son de ELT y de epileptogénesis, son diferentes en varios aspectos, lo que puede explicar los datos contradictorios obtenidos en el presente estudio. Por una parte, la sola administración de AK (10 mg/kg, i.p.) produce SE, mientras que con la estimulación tipo “kindling” se requieren de varios ensayos para presentar crisis generalizadas. Al presente no existen evidencias en la literatura de como es posible que la rápida sucesión de crisis en el SE podría modificar a largo plazo la conducta, a diferencia de las crisis con un mayor intervalo interictal. Lo anterior sugiere

la necesidad de realizar estudios enfocados a investigar los efectos del SE en la conducta emocional en humanos y modelos animales.

Un factor importante en el SE es el estrés que éste produce. Al respecto, se sabe que el estrés, como el inducido por el nado forzado en ratones, causa ansiólisis en la prueba de enterramiento hasta por tres días después de su inducción (Briones-Aranda, López-Ruvalcaba, y Picazo, 2002). Existen varias situaciones paralelas entre el estrés y el SE por el AK. El stress se caracteriza por un aumento de la liberación del factor de liberación de corticotropina (CRF) en el cerebro (Kandel y col., 1991) y la administración de AK produce un notable aumento en el marcaje inmunológico del CRF en varias áreas cerebrales (Piekut y Phipps, 1999). El estrés induce un daño neuronal a nivel de CA3 del hipocampo similar al producido por el AK (Uno, Tarara, Else, Suleman, y Sapolsky, 1989; McEwen, 1999). La CRF activada por el estrés media la liberación de péptidos opioides (Olson, Olson, y Kastin, 1989). El incremento de la CRF inducida por AK pudiera estar involucrado en la liberación de péptidos opioides que se detecta en el hipocampo durante el SE (Rocha y Maidment, 2003). Por todo lo anterior, es razonable suponer que los animales tratados con AK sufren cambios similares a los producidos por el estrés intenso, asociado a la activación de diferentes sistemas de neuropéptidos. Se podría considerar al SE como un evento estresante, similar o de mayor intensidad al nado forzado que podría ser la causa de la ansiólisis a largo que observamos en nuestro estudio. Estudios futuros deben de realizarse con el fin de demostrar esta hipótesis. Otros sistemas como el serotoninérgico, que se activan con el estrés pudieran también jugar un papel importante en la ansiólisis inducida por el AK (ver apartado 4.1.2 y 4.1.3).

A diferencia del AK, el “kindling” induce en menor grado daño neuronal y reorganización sináptica en el sitio de estimulación (Lynch y Sutula, 2000). Se sabe que el AK induce efectos excitotóxicos en áreas cerebrales específicas como la amígdala, septum e hipocampo dorsal y/o ventral (Hopkins, Wang, y Schmued, 2000). Por otra parte, la lesión de estas áreas por electrólisis produce ansiólisis en la prueba de enterramiento (Kopchia, Altman, y Commisaris, 1992; Treit, Aujla, y Menard, 1998; Treit y Menard, 1997; Treit, Pesold, y Rotzinger, 1993a). La pérdida neuronal y la reorganización sináptica producidas por el AK podrían dar cuenta de la ansiólisis en los animales tratados con AK (Ver apartado 4.1.1).

Otro factor importante es que la manipulación diaria de las ratas eleva los niveles de la hormona del estrés corticoetropina en plasma, lo cual además de modificar la excitabilidad del hipocampo y de la amígdala, contribuye a aumentar las respuestas defensivas (Korz y Frey, 2003). El “kindling” eléctrico requiere manipular a los animales repetidamente durante al menos 15 minutos durante cada ensayo. En los estudios que vinculan a este modelo de ELT con ansiedad, los animales se manipularon hasta tres veces al día (Kalynchuk, 2000; Kalynchuk y col., 2001; Kalynchuk y col., 1998; Kalynchuk y col., 1998; Kalynchuk y col., 1997). Es posible que, a diferencia del AK, el estrés inducido por la manipulación frecuente facilite la producción de ansiedad en el “kindling” eléctrico.

Con respecto a cada uno de las conducta evaluadas durante la prueba de enterramiento, en el presente trabajo se observó que las ratas tratadas con AK presentaron un aumento en la latencia al enterramiento (LE), efecto que se asocia a un decremento en la ansiedad (Kopchia y col., 1992), o a hiporreactividad (Rodríguez-Manzo, López-

Ruvalcaba, y Fernández-Guasti, 1999). Kopchia y col. (1992) reportaron que después de la lesión bilateral electrolítica de la amígdala central en ratas, existe un aumento de la respuesta castigada en la prueba de conflicto de Vogel y en la LE en la prueba de enterramiento (Kopchia y col., 1992). Es posible que el daño neuronal en la amígdala cerebral inducido por el AK (Hopkins y col., 2000), se correlacione con el incremento de la LE observada en el presente estudio.

La ausencia de cambios en los valores obtenidos del TR en los diferentes grupos experimentales sugiere que el nivel de actividad general de los animales no se modificó por el AK.

El número de choques recibidos (CH) se le interpreta como un índice de ansiedad y de analgesia. Se ha observado que después de lesiones amigdalinas, las ratas presentan un aumento en la frecuencia de contactos con el electrodo en la prueba de enterramiento y un aumento en el tiempo explorando el brazo abierto en el laberinto en cruz elevado ((Treit y col., 1993a; Treit, Pesold, y Rotzinger, 1993b). La ausencia de cambios en CH a los 7, 28 y 150 días después del AK sugiere que la muerte neuronal en la amígdala basolateral, central y medial detectada a partir de los 7 días post AK (Hopkins y col., 2000) no modifica la evitación pasiva de estímulos dolorosos, y que la ansiólisis no se asocia a un cambio en la nocicepción.

La conducta de ansiólisis observada en la prueba de enterramiento de las ratas tratadas con AK no se debe a un cambio en la actividad general o en la nocicepción, aunque podría estar enmascarada por hiporreactividad.

4.1.1 Cambios neuronales y en los sistemas GABAérgicos y colinérgicos inducidos por el AK en el circuito septo hipocampal como posible sustrato de la ansiólisis en el enterramiento

El sustrato anatómico de la ansiedad se ubica principalmente en diferentes estructuras del sistema límbico (Fig.1), las cuales participan de manera diferencial en cada modelo de ansiedad (LeDoux, 2000; Menard y Treit, 1999). Dallas Treit y colaboradores han sugerido que el circuito formado por el septum y el hipocampo es el responsable del control de la conducta en la prueba de enterramiento (Treit y Menard, 1997; Treit y col., 1993a; Degroot, Kashluba, y Treit, 2001; Degroot y Treit, 2002; Degroot y Treit, 2003).

Todas las áreas de la formación hipocampal, con la excepción del giro dentado, proyectan aferentes glutamatérgicas y GABAérgicas hacia el septum lateral. De éstas, la conexión más importante se origina en el *stratum pyramidale* del CA3 y en un menor grado en las interneuronas en el CA1, las cuales se dirigen al septum medial e inervan neuronas colinérgicas y no colinérgicas (Johnston y Amaral, 1998).

Las eferencias del septum al hipocampo son en su mayoría colinérgicas y se originan de su división medial e inervan de manera importante la capa polimórfica en el giro dentado y el *stratum radiatum* en el resto de la formación hipocampal. Cuando la acetilcolina actúa a nivel presináptico, inhibe la liberación de glutamato, mientras que postsinápticamente disminuye la conductancia de potasio, por lo que facilita la despolarización ((Vizi y Kiss, 1998; Johnston y Amaral, 1998). También hay proyecciones bidireccionales originadas principalmente del septum lateral y que terminan

en neuronas GABAérgicas inmunoreactivas al neuropéptido somatostatina en cada capa del hipocampo (Vizi y Kiss, 1998).

Existen evidencias de que la conducta de enterramiento está mediada por el circuito septo-hipocampal a través de diferentes neurotransmisores. En el septum, la lesión o la inhibición farmacológica, ya sea lateral o medial, mediante la infusión de agonistas GABAérgicos produce un decremento en el TE (Treit y Menard, 1997; Treit y col., 1993a; Treit y col., 1993b; Degroot y col., 2001; Degroot y Treit, 2002; Degroot y Treit, 2003). En el hipocampo, el aumento en la acetilcolina extracelular, por la administración de inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) produce una disminución de la ansiedad (Degroot y col., 2001; Degroot y Treit, 2002; Degroot y Treit, 2003). Sin embargo, la lesión bilateral electrolítica del hipocampo dorsal o la administración del muscimol, un agonista GABAérgico, no producen cambios en la conducta de enterramiento (TE) (Menard y Treit, 2001; Treit y Menard, 1997). La combinación del aumento de acetilcolina en el hipocampo, por la infusión hipocampal subefectiva de fisostigmina, un inhibidor de la AChE, y la activación en el septum de receptores GABA_A por muscimol, producen sinergismo del efecto ansiolítico inducido por ambos tratamientos (Degroot y Treit, 2003). Estos datos sugieren que un incremento de la neurotransmisión GABAérgica en septum, y/o un aumento de la neurotransmisión colinérgica en el hipocampo, inducen un decremento de la ansiedad. Otros neurotransmisores pueden estar involucrados en esta conducta a nivel del circuito septohipocampal, ya que existen evidencias de que, en la prueba de laberinto elevado, los efectos ansiolíticos por la administración de midazolam -agonista BDZ- intrahipocampal

son antagonizados por la coinfusión de L-glutamato en el septum lateral (Menard y Treit, 2001).

La administración sistémica de AK no induce cambios en la producción de colina acetiltransferasa a nivel del hipocampo las 24 h. y al menos hasta un mes después del SE, aunque existe un decremento de la misma en la amígdala y en la corteza piriforme (Heggli y Malthe-Sorensen D., 1982; Sperk, Baran, Kish, Seitelberger, y Hornykiewicz, 1983). En cuanto al sistema GABAérgico, Kish y col. no encontraron diferencias significativas en el hipocampo de ratas a las 3 horas, 3 días y 21 días después del AK, en la densidad de receptores a benzodiazepinas (BZD) utilizando la técnica de “binding” (Kish, Sperk, y Hornykiewicz, 1983). En un estudio de autorradiografía, técnica que permite una evaluación de la distribución de los niveles de receptores, Rocha y Ondarza-Rovira (1999) encontraron que hay un aumento de los receptores a BZD únicamente en el GD pero que no existen cambios en CA1 o CA3 a los 40 días después de la administración de AK. Utilizando la técnica de hibridización *in situ*, Friedman y col. encontraron que hay menos inmunorreactividad a la ARNm que codifica la subunidad α_1 del receptor a GABA en CA3 pero no hay cambios en el mismo en GD o CA1 de ratas a las 24 horas después de la administración de AK (Friedman y col., 1994).

En la actualidad todavía no está claro como el AK modifica la inhibición mediada por GABA (Ben-Ari y Cossart, 2000). De acuerdo al parámetro que es observado, la inhibición puede aparecer como aumentada, sin cambios o disminuida (Frerking, Petersen, y Nicoll, 1999; Ben-Ari y Cossart, 2000). Sin embargo, una perspectiva global de la inhibición en este modelo de ELT se puede obtener de observar las corrientes GABAérgicas espontáneas que reciben las neuronas piramidales en CA3 durante estado-

estable. Este estudio revela que el flujo neto del ión Cl⁻ a través de los receptores GABA_A está aumentada hasta en un 50 % en los somas (Ben-Ari y Cossart, 2000). En cuanto al septum no existen reportes que indican si existen o no cambios en los niveles de receptores a GABA o del contenido extracelular de este aminoácido después de la administración de AK.

Por otro lado, la gemación de axones en la región CA3 de interneuronas y de neuronas piramidales (Wuarin y Dudek, 1996; Buckmaster y Dudek, 1999) probablemente modifique sus eferencias al septum lateral lo cual también podría modificar la inhibición de la siguiente manera. La gemación de las fibras musgosas hace hiperexcitable a las células granulares (Wuarin y Dudek, 1996; Lynch y Sutula, 2000). Las neuronas, interneuronas y células piramidales de CA3 también son hiperexcitables (Wuarin y Dudek, 1996; Ben-Ari y Cossart, 2000). La conexión del giro dentado a CA3 hace más probable que las neuronas del último se despolaricen (Buckmaster y Dudek, 1999). Como, además, la eferencia hipocampal al septum es mucho mayor en CA3 que en cualquier otra área de la formación hipocampal, se puede hipotetizar que al ser hiperexcitables, las neuronas GABAérgicas aumenten el tono de disparo hacia el septum medial. Debido a que la neurotransmisión GABAérgica en el septum subyace a la ansiólisis en la prueba de enterramiento (Degroot y Treit, 2003), este podría ser uno de los mecanismos que subyacen a la ansiólisis en animales que tuvieron SE después de la administración de AK (Fig. 10).

Un hipotético aumento de la inhibición GABAérgica en el septum medial podría ser el substrato neuronal de la ansiólisis post AK. Futuras investigaciones en la síntesis, liberación y efecto, así como de niveles de receptores de acetilcolina en el hipocampo y

de GABA en el septum de las ratas tratadas con AK en sus diferentes etapas de progreso epileptogénico podrán dar una visión mucho más clara de su participación en la conducta ansiolítica en este modelo de ELT.

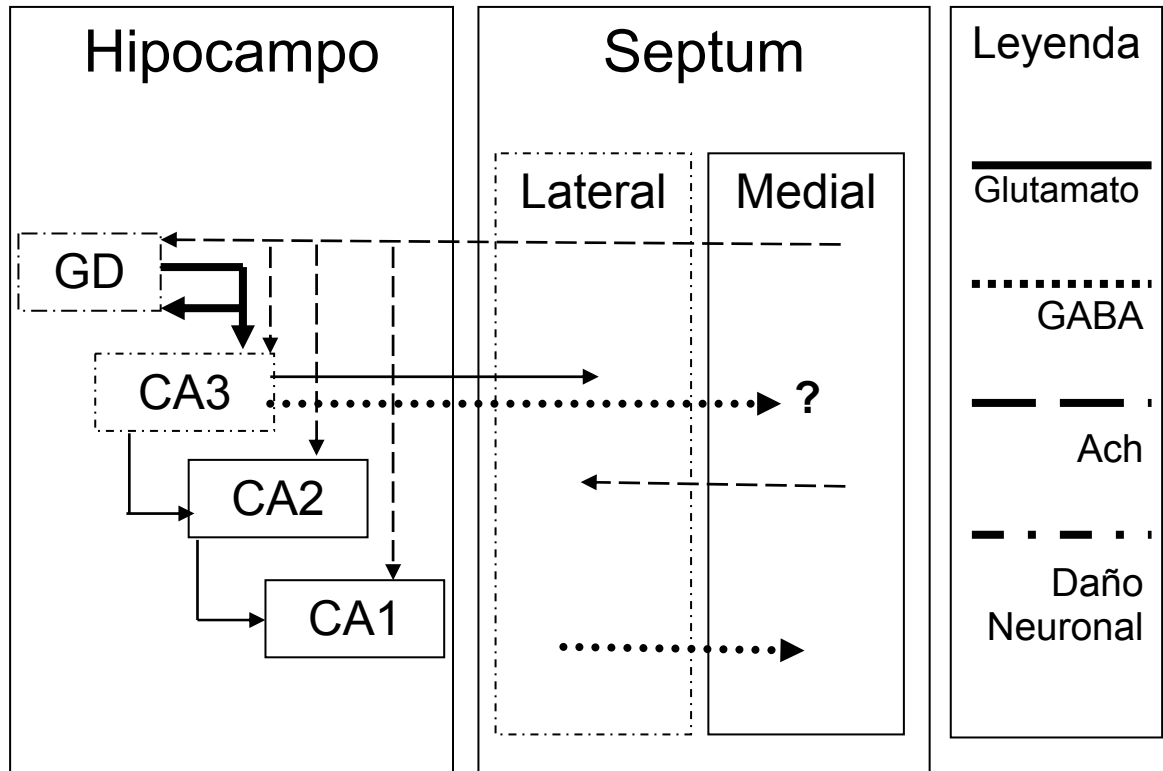


Figura 1. Circuito septohipocámpico post AK

Las fibras musgosas son hiperexcitables (Kobayashi y Buckmaster, 2003; Wuarin y Dudek, 1996), alterando la excitabilidad de las neuronas en CA3 al aumentar la probabilidad de que disparen (Wuarin y Dudek, 1996) y como estas, además de que también son hiperexcitables, también inervan el septum, probablemente aumenten la neurotransmisión GABAérgica a este núcleo. Las áreas cerebrales que tienen pérdida neuronal a partir de una semana post AK están bordeadas por una línea puntada. GD, Giro Dentado; CA, Cuerpo de Ammon; Ach, Acetilcolina; GABA, Ácido γ -amino butírico.

4.1.2 Los cambios en el sistema de péptidos opioides inducidos por el AK como posible substrato neuronal de la ansiólisis en el enterramiento.

Existen evidencias de que los péptidos opioides intervienen en la modulación de la ansiedad (Vaccarino y Kastin, 2001). El impedir la transcripción o “noquear” los receptores δ se produce ansiogénesis, sugiriendo que su activación endógena tiene efectos ansiolíticos. Por otra parte, el “borrar” mediante la técnica de knock out los receptores μ produce ansiólisis, sugiriendo que la activación endógena de estos receptores tiene efectos ansiogénicos (Fillol y col., 2000). Por otro lado, se sabe que los receptores κ de los opioides endógenos no participan en la ansiedad debido a que al ser noqueados no modifica la ansiedad (Fillol y col., 2000). En cuanto a los ligandos endógenos a estos receptores Ragnauth y col. (2001) reportaron que los ratones knockout a la preproencefalina, precursor de las encefalinas, que a su vez tiene una mayor afinidad a los receptores δ que a los receptores μ , son más ansiosos que los ratones salvajes (Ragnauth y col., 2001). Se sabe que la administración de delta-⁹-tetrahidrocanabinol (THC) produce conductas ansiolíticas en ratones, un efecto modulado por los receptores CB₁, μ y δ ya que la administración de antagonistas selectivos a cada uno de esos receptores bloquearon el efecto ansiolítico inducido por el THC (Berrendero y Maldonado, 2002).

Estudios de tomografía por emisión de positrones en pacientes con epilepsia unilateral en el lóbulo temporal indican que hay un aumento en la unión a receptores μ y δ del ligando radioactivo en la corteza temporal con foco comparado contra el hemisferio sin foco epiléptico (Frost y col., 1988; Madar y col., 1997). Además, estudios de autorradiografía en neocorteza resectada durante cirugía para controlar las crisis epilépticas neocorticales indican que existe una disminución en los niveles de receptores

δ en el foco y su área circundante, y también de los receptores μ en el área circundante al foco (Ondarza, Trejo-Martínez, Corona-Amezcuca, Briones, y Rocha, 2002).

En las primeras etapas (II-III) o crisis parciales inducidas por el modelo “kindling” eléctrico, así como a las 24 h después de la última crisis generalizada fase V existe un aumento en los niveles de los receptores μ a opioides en áreas cerebrales específicas, entre ellas la corteza del cíngulo, las cortezas entorhinales y temporales, caudado putamen, la amígdala anterior y algunos núcleos del tálamo, mientras que a los 28 días después de la última fase V, hay una disminución en los niveles del receptor μ en las áreas neuronales antes mencionadas (Rocha y col., 1993). En cuanto al receptor δ , Araiza (2002) observó que a las 24 horas después de alcanzado el estado “kindled”, los niveles de este receptor están disminuidos únicamente en el área CA2. En cuanto a la liberación de opioides durante el “kindling” amigdalino, Rocha y col. (1994) reportaron que en animales en estado “kindled” hay una disminución de los niveles extracelulares de met-enkefalina en la amígdala durante la estimulación. En cambio, en el hipocampo después de la estimulación hay un aumento en la liberación de dinorfinas y de encefalinas (Rocha, Evans, y Maidment, 1997).

A los 40 días después del SE inducido por el AK en ratas adultas hay un aumento en los niveles de los receptores μ en la amígdala y en el hipocampo (Pérez-Cruz y Rocha, 2002), mientras que los receptores δ aumentan en la amígdala basolateral y las cortezas del cíngulo y temporal, y disminuyen en la corteza piriforme (Araiza Saldaña, 2002). Después de la administración de AK y durante el SE se producen dos picos de liberación de opioides en el hipocampo, a los 90 y a los 270 minutos, mientras que a los 28 días

después del AK se observa una disminución en la cantidad de péptidos opioides que se encuentran extracelularmente (Rocha y Maidment, 2003).

Es posible que los cambios en receptores a opioides inducidos por la epilepsia se asocien a un estado ansiolítico o ansioso. En el caso del “kindling” eléctrico, las fases tempranas se asocian a un estado ansioso (Adamec y Young, 2000) que se correlacionan a un aumento de receptores μ . El aumento en los niveles de receptores μ en humanos podría ser una de las causas del aumento en la ansiedad en pacientes epilépticos. Por otra parte, la ansiólisis detectada a diferentes tiempos en ratas tratadas con AK puede asociarse a un incremento de receptores δ en la amígdala basolateral y en la corteza del cíngulo y temporal. Al parecer, la liberación de los péptidos opioides en el hipocampo no interviene en la ansiólisis por el AK, ya que sus niveles están disminuidos varios días después del SE. Sin embargo, no se descarta un aumento de los niveles extracelulares de las encefalinas y dinorfinas en otras áreas cerebrales, como por ejemplo la amígdala.

4.1.3 Los cambios en el sistema serotoninérgico inducidos por el AK como posible substrato neuronal de la ansiólisis en el enterramiento.

La serotonina (5-HT) también podría participar en la ansiólisis observada en los animales tratados con AK. La administración sistémica de agonistas al receptor 5-HT_{1A} produce efectos ansiolíticos en la prueba de enterramiento (Briones-Aranda y col., 2002). Aunque la administración intracerebral del agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT en el septum produce un decremento en la ansiedad, en el hipocampo no produce cambios en la conducta de enterramiento (Menard y Treit, 1999). En general se desconoce si el efecto ansiolítico de los agonistas 5-HT_{1A} se debe a su unión en los receptores presinápticos en el rafe dorsal o a su unión directa a los receptores postsinápticos que se encuentran

distribuidos en el sistema límbico, especialmente en la amígdala, el hipocampo y el septum. El estudio de Menard y Treit (1999) sugiere que el efecto ansiolítico de los agonistas 5-HT_{1A} en la prueba de enterramiento es postsináptico,

Con respecto a la epilepsia, se sabe que el SE inducido por la pilocarpina, un agonista muscarínico, no altera la síntesis de 5-HT hasta al menos 7 días después de su administración, pero aumenta la utilización de 5-HT en el hipocampo, efecto que regresa a niveles basales entre 90 y 120 días después del SE (Cavalheiro y col., 1994). Se describe que el AK no produce cambios en la liberación *in vitro* de 5-HT en el hipocampo de animales sacrificados durante el SE (Arias, Montiel y Tapia, 1990). Sin embargo, (Nakazato y Akiyama, 1997), utilizando voltametría *in vivo*, reportaron que después de la administración intra-estriatal de AK hay un aumento en la liberación de 5-HT. En cuanto a receptores, 24 horas después del AK existe una disminución de los niveles de los receptores a 5-HT_{1A} en el giro dentado y en CA1 del hipocampo, los cuáles empiezan a aumentar a partir de los 6 días post AK y llegan a niveles basales a los 60 días (Van Bogaert y col., 2001)

En los dos primeros meses se debe descartar la participación de los receptores 5HT_{1A} hipocampales en la ansiólisis inducida por AK debido a que sus niveles están disminuidos en esta estructura (Van Bogaert y col., 2001). Otras áreas cerebrales en las cuáles la actividad epileptogénica inducida por el AK podría modificar la densidad o la afinidad de los receptores 5-HT_{1A}, podrían participar en la ansiólisis que observamos. Por otro lado, en estudios preliminares en el laboratorio hemos encontrado que la respuesta compulsiva de los animales tratados con AK está aumentada después de la administración

de 8-OH-DPAT, lo cual sugiere que existe un aumento en la densidad de estos receptores o un incremento en su afinidad.

Estudios futuros deben de enfocarse a investigar si existe un aumento de la activación de los receptores 5-HT_{1A} en el septum y/o el hipocampo post AK, así como cambios en la síntesis y en la utilización de la 5-HT en el hipocampo y demás áreas del sistema límbico que podrían dar cuenta de la ansiólisis en la prueba de enterramiento de las ratas tratadas con AK.

4.2 Conducta de alternancia espontánea post AK

A diferencia de lo que esperábamos, los animales tratados con AK no mostraron perseverancias en el laberinto en T a los tiempos evaluados después del SE.

Se sabe que el TOC está asociado a disfunción de los circuitos fronto-subcorticales y límbico-subcorticales (Arciniegas y Bercoford, 2001; McGrath, Campbell, Parks, y Burton, 2000). Las estructuras que están involucradas principalmente son los lóbulos frontales, incluyendo las cortezas orbitofrontales y dorsolaterales, el caudado putamen que forma parte de los ganglios basales, y los núcleos anteriores el tálamo (Arciniegas y Bercoford, 2001; Fig. 11).

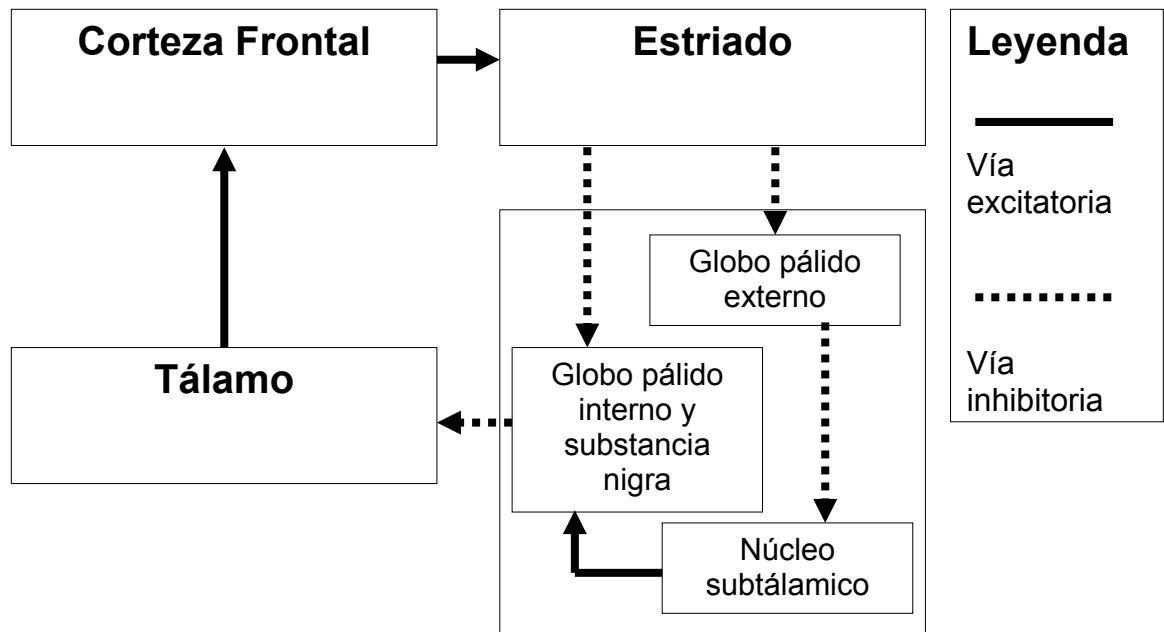


Figura 2. Circuito orbitofrontal involucrado en el TOC.

Se sugiere que el TOC resulta de un aumento en la activación de la corteza frontal, que a su vez activa el estriado, el cual inhibe a los ganglios basales. Estos últimos al no inhibir al tálamo, la conexión cortico-talámica aumenta la actividad de la corteza frontal produciendo la activación de un circuito cerrado de manera ininterrumpida (Adaptado de Arciniegas y Bercoford, 2001).

Actualmente se utilizan dos diseños experimentales para medir la tasa de alternancia en el laberinto en T. En el primero de ellos, en el primer ensayo se coloca al roedor, ya sea una rata o un ratón, en el tronco del laberinto y se observa cuál brazo meta visita, mientras que en el segundo ensayo se repite el procedimiento y se observa si el animal repite o alterna su visita del brazo meta (Lalonde, 2002). El segundo diseño, el cual se utilizó en nuestro estudio, se basa en el método descrito por Yadin (Yadin y col., 1991). La diferencia radica en que los animales se habitúan antes a cada uno de los brazos (Ver apartado 2.4.2). Esto representa un problema al momento de comparar los estudios porque los substratos neuronales podrían variar entre uno y otro diseño experimental.

Las tasas de alternancia en el laberinto en T con el primer diseño al parecer dependen específicamente de la integridad del CA3 y disminuyen por la lesión quirúrgica del hipocampo (Lalonde, 2002). De igual manera, la lesión del septum, los cuerpos mamilares, el tálamo anterior o el dorsomedial, la corteza prefrontal, el estriado dorsomedial, el área tegmental ventral y el cerebelo producen un déficit en la tasa de alternancia en el laberinto en T (Lalonde, 2002).

Por otro lado, cuando se ha utilizado el segundo diseño se observa que la administración sistémica del agonista 5-HT_{1A} produce un aumento en las perseverancias, o por ponerlo de otra manera, disminuye la alternancia (Fernández-Guasti, Ulloa, y Nicolini, 2003; Seibell, Demarest, y Rhoads, 2003; Yadin y col., 1991). La administración del agonista serotoninérgico 5-HT₂ R-(-)-dimethoxiidofenilaminoetano (DOI) o del agonista 5-HT₃ N-metil quipazina (NMQ) no producen efectos en la conducta de alternancia espontánea (Seibell y col., 2003).

De la lista de estructuras neuronales que participan en la conducta de alternancia analizadas con el primer diseño experimental se pueden distinguir dos clases, las que pertenecen al circuito orbitofrontal (el tálamo anterior y el dorsomedial, la corteza prefrontal, el estriado dorsomedial y en menor medida el área tegmental ventral) y las que participan en la formación de la memoria (hipocampo, cuerpos mamilares y septum). En el primer diseño, los animales tienen que recordar que brazo visitaron para alternar su visita, por el contrario en el segundo diseño durante el o los días de prueba no hay una demanda a la memoria tan grande como en el primer diseño (Gerlai, 2001; Lalonde, 2002). Por lo tanto, podemos suponer que aunque el AK produce severo daño neuronal en el hipocampo, el septum y algunos núcleos del tálamo (Ben-Ari, 1985; Hopkins y col.,

2000), no hay un déficit en la tasa de alternancia en el laberinto en T como consecuencia de la habituación. Por el contrario, se podría argumentar que debido a la pérdida neuronal, en la fase de habituación los animales con AK podrían tener fallos para conocer el laberinto en T, pero estudios de la memoria espacial en estos animales indica que en los primeros días si existen estos fallos para aprender la localización de una plataforma en un laberinto de agua, pero estos animales son capaces de localizar la plataforma en los días de prueba (Mikati, Tarif, Lteif, y Jawad, 2001; Stafstrom, Chronopoulos, Thurber, Thompson, y Holmes, 1993).

Por otro lado, cambios en el sistema serotoninérgico podrían participar en la conducta en el laberinto en T que observamos. Se ha observado que un déficit en los niveles de disponibilidad de 5-HT subyace a los síntomas del TOC (Baxter, 1999; McDougle, 1999), por lo tanto que no se hayan observado cambios en la conducta de perseverancia en los animales tratados con AK sugiere que no hay un déficit en la disponibilidad de 5-HT en estos animales.

Finalmente, el resultado de que los animales tratados con AK no mostraran conductas compulsivas está de acuerdo con baja la incidencia de casos de ELT comórbida con TOC (Marsh y Rao, 2002), mientras que sí lo es para la epilepsia del lóbulo frontal (Helmstadter, 2001), probablemente debido a que en este último es más probable que existan alteraciones en el circuito orbitofrontal.

5 Conclusiones

Las ratas tratadas con AK y que presentaron SE están ansiolizadas en la prueba de enterramiento y no muestran conductas compulsivas en el laberinto en T a partir al menos del séptimo día después del tratamiento y hasta cinco meses después del mismo. Se proponen tres hipótesis del substrato neuronal del efecto observado en los animales tratados con AK en la prueba de enterramiento. 1) Un aumento en la transmisión GABAérgica en el septum y colinérgica en el hipocampo. 2) Una mayor activación de los receptores δ y de los péptidos que se unen a este receptor. 3) Un aumento en la activación del receptor 5-HT_{1A} en el septum o en otras áreas cerebrales. Estas tres hipótesis no son excluyentes, ya que se podrían presentar de manera simultánea. Por otro lado, en la prueba de alternancia se argumenta que el AK no modifica de manera substancial el circuito que subyace al TOC.

Este modelo de epilepsia, aunque no es el adecuado para el estudio de la epilepsia del lóbulo temporal comórbida con ansiedad o el trastorno obsesivo-compulsivo, se puede utilizar como una herramienta para la comprensión de la neurobiología de la ansiedad y de los mecanismos que subyacen a la ansiólisis.

6 Perspectivas

Algunas preguntas surgieron de este estudio que merecen la atención de ser resueltas:

¿Es el modelo de AK inadecuado para el estudio de la epilepsia comórbida con ansiedad? Esta pregunta queda parcialmente resuelta, resta por poner a prueba a los animales tratados con AK en pruebas de ansiedad en las cuáles la conducta ansiosa se mida en inhibición de la conducta como el laberinto elevado en cruz, la prueba de luz: oscuridad.

¿Cuáles son las bases neurobiológicas de este patrón conductual? Se discutieron tres posibilidades, un aumento en la liberación tónica de opioides, cambios en el circuito septohipocampal y cambios en el sistema serotoninérgico. Cualquiera de estas tres posibilidades se pueden someter a prueba con, por ejemplo, estudios farmacológicos, de microdiálisis, inmunohistoquímica, c-fos y de contenido tisular de neurotransmisores.

¿El "kindling" eléctrico es el único modelo de ELT en animales que permite el estudio de la epilepsia comórbida con ansiedad? Es necesario investigar la viabilidad de otros modelos de ELT. El modelo de "kindling" químico con PTZ no ha sido muy confiable. Otros modelos todavía no son analizados como lo es el de litio-pilocarpina, el de la 4-aminopiridina, el modelo de abstinencia a GABA, ratas GAERS o en general animales transgénicos "epilépticos" como lo son los animales KO a los receptores 5-HT_{1A} y 2A, y a enzimas como la GAD65, aunque no se les considere modelos de ELT *per se*.

No se encontraron estudios de la participación de los péptidos opioides en la prueba de enterramiento, la participación de este sistema de neuromodulación en la ansiedad merece ser evaluada en este y otros paradigmas de ansiedad.

Uno de los aspectos que puede ser más interesante del presente estudio es la posibilidad de utilizar el modelo de AK para el estudio de la neurobiología de la ansiedad. La mayoría de los datos, como por ejemplo el daño neuronal o el proceso de epileptogénesis que produce el AK, apuntaban a que se observaría ansiogénesis. Que el AK haya sido capaz de inducir ansiólisis merece futuras investigaciones sobre cuáles pueden los substratos neuronales que subyacen al control y la expresión de la ansiedad que modificó este agente. Además, la aclaración de cuáles son los substratos neuronales que modificó el AK para producir ansiólisis y de los sistemas de neurotransmisión que participaron podría dar nuevas ideas para el desarrollo de agentes exógenos para el tratamiento de la ansiedad.

Por otro lado el modelo de AK podría ser viable para estudiar la depresión comórbida a la epilepsia, la cual afecta a aproximadamente al 30% de los pacientes refractarios a ELT (Manchanda, 2002). Si consideramos que este modelo de ELT en su fase crónica se caracteriza por crisis recurrentes espontáneas que el animal no puede predecir, se puede suponer que podrían desarrollar indefensión aprendida, a diferencia de las ratas con “kindling” que pueden predecir el lugar y el momento en que una crisis sucederá (Barnes y Pinel, 2001) y no desarrollan respuestas depresivas (Helfer y col., 1996).

Finalmente, se debe de estudiar epidemiológicamente las posibles diferencias entre humanos con ELT que han y no han vivido un SE, ya que este factor podría estar afectando de manera indirecta el estilo de confrontación con las demandas sociales. Es necesario diseñar investigaciones epidemiológicas de este fenómeno, y en especial en México ya que son literalmente inexistentes.

7 Glosario

Agonista En farmacología es una sustancia que es capaz de activar parcial o completamente un receptor.

Antagonista Es una sustancia capaz de bloquear los efectos de una sustancia agonista.

Clonía. Es un tipo de crisis convulsiva y se distingue por movimientos rítmicos de la cabeza y el cuerpo. Los sinónimos utilizados fueron *clonus* y *clónico*.

Convulsión Es el síntoma motor de la actividad anormal del sistema nervioso.

Crisis Las crisis epilépticas son la manifestación clínica (síntomas y signos) de actividad anormal, ya sea excesiva y/ o hipersincrónica de las neuronas del sistema nervioso central.

Epilepsia Un desorden epiléptico es una condición crónica neurológica caracterizada por la repetición de crisis epilépticas. El diagnóstico de epilepsia implica que una anomalía neurológica responsable de generar la crisis persiste entre cada evento.

Epileptogénesis Son los procesos dinámicos que conllevan al desarrollo de un desorden epiléptico.

Foco epiléptico Se define electrofisiológicamente como la área cortical que es la fuente de las descargas interictales epileptiformes. Pueden ser bilaterales e independientes, puede ser nada más uno o pueden haber múltiples focos inclusive pueden ser difusos, lo cual indica que no se detectan los focos.

Ictal. Se refiere a la crisis epiléptica en sí, identificada clínica o electrofisiológicamente.

Interictal. Se refiere al tiempo que transcurre entre la resolución del período postictal y el inicio del próximo evento ictal.

Kindling. Es un procedimiento experimental que consiste en la aplicación de estímulos eléctricos intracerebrales o químicos, que inicialmente no producen convulsiones, pero después de la administración repetida de la misma dosis producen crisis convulsivas más severas (generalizadas).

Mioclona. Es un tipo de crisis convulsiva, se caracteriza por movimientos arrítmicos de la cabeza y el cuerpo.

Postictal. Consiste en anomalías clínicas o electrofisiológicas transitorias en el funcionamiento cerebral que resultan del ictus y aparecen cuando el ictus ha acabado y puede durar de segundos a días.

8 Índice de abreviaturas

5-HT. 5-hidroxitriptamina

8-OH-DPAT. (\pm)-8-Hydroxi-2-dipropilaminotetralin hidrobromida

Ach. Acetilcolina

AchE. Acetilcolina esterasa

AK. Ácido kaínico

AMPA ácido *a*-Amino-3-hydroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico

ANOVA Análisis de varianza

ARNm Ácido ribonucleíco mensajero

BZD. Benzodiazepina

CA. Cuerpo de Ammon

CH Número de choques recibidos en la prueba de enterramiento

E+T Prueba de enterramiento seguida de la PAE

EEM Error estándar de la media

ELT. Epilepsia del lóbulo temporal

FAE. Fármaco antiepiléptico

FJB. Fluoro jade B

GAD. Descarboxilasa del ácido gama-aminobutírico

GAERS *Genetical epileptic rat strain*

GL Grados de libertad

i.p. intraperitoneal

ISRS. Inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina

LE latencia a enterrar en la prueba de enterramiento

mA micro amperes

MOR Movimientos oculares rápidos

OMS. Organización mundial de la salud

PAE Prueba de alternancia espontánea

PTZ. Pentilenetetrazol

SE. *Status epilepticus*

SS Solución salina

T+E. Prueba PAE seguida de la prueba de enterramiento

TAG. Trastorno de ansiedad generalizada

TE tiempo en enterramiento en la prueba de enterramiento

THC delta-9-tetrahidrocanabinol

TOC. Trastorno obsesivo-compulsivo

TR Tiempo en “rearing” en la prueba de enterramiento

8 Bibliografía

- Adamec, R. (1990). Does kindling model anything clinically relevant? Biological Psychiatry, *27*, 249-279.
- Adamec, R. (1997). Transmitter systems involved in neural plasticity underlying anxiety and defense- implications for understanding anxiety following traumatic stress . Neuroscience and Biobehavioral Reviews , *21*(6), 755-765.
- Adamec, R. (2001). Partial kindling and behavioral pathologies. International Review of Neurobiology, *45*, 409-434.
- Adamec, R., y Young, B. (2000). Neuroplasticity in specific limbic system circuits may mediate specific kindling induced changes in animal affect-implications for understanding anxiety associated with epilepsy. Neuroscience and Biobehavioral Reviews , *24*, 705-723.
- APA. (2000). Diagnostic and statistic manual of mental disorders IV Text revised. EUA: Amer Psychiatric Press.
- Araiza Saldaña, C. I. (2002). Análisis comparativo de los cambios en los niveles de receptores delta opioide en cerebro de ratas con epilepsia por kindling electrico amigdalino y por acido kaínico. México: El autor.
- Arias, C., Montiel, T., & Tapia, R. (1990). Transmitter release in hippocampal slices from rats with limbic seizures produced by systemic administration of kainic acid. Neurochemical Research, *15*(6), 641-645
- Arciniegas, D. B., y Bercoford, T. P. (2001). Neuropsychiatry. An introductory approach. Cambridge, MA: Cambridge University Press.
- Barnes, S. J., y Pinel, J. P. J. (2001). Conditioned effects of kindling. Neuroscience and Biobehavioral Reviews , *25*, 745-751.
- Baxter, L. R. (1999). Functional imaging of brain systems mediating obsessive-compulsive disorder. (pp. 534-547). Oxford: Oxford University Press.
- Bear, D. M., y Fedio, P. (1977). Quantitative analysis of interictal behavior in temporal lobe epilepsy. Arch Neurol, *34*(8), 454-67.
- Ben-Ari, Y. (1985). Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: Mechanism and relevace to human temporal lobe epilepsy. Neuroscience., *14*, 375-403.
- Ben-Ari, Y., y Cossart, R. (2000). Kainate, a double agent that generates seizures: two decade of progress. Trends in Neurosciences, *23*, 580-587.
- Berrendero, F., y Maldonado, R. (2002). Involvement of the opioid system in the

- anxiolytic-like effects induced by Delta(9)-tetrahydrocannabinol. Psychopharmacology (Berl), 163(1), 111-117.
- Blier, P., y de Montigny, C. (1999). Serotonin and drug-induced therapeutic responses in major depression, obsessive-compulsive and panic disorders. Neuropsychopharmacology, 21(2S), 91S-98S.
- Boylan, L. S., Devinsky, O., Barry, J. J., y Ketter, T. A. (2002). Psychiatric uses of antiepileptic treatments. Epilepsy y Behavior, 3, S54-S59.
- Brailowsky, S. (1999). Epilepsia. Enfermedad sagrada del cerebro. México: FCE ; CONACYT ; SEP.
- Briones-Aranda, A., López-Ruvalcaba, C., y Picazo, O. (2002). Influence of forced swimming-induced stress on the anxiolytic-like effect of 5-HT_{1A} agents in mice. Psychopharmacology, 162, 147-155.
- Buckmaster, P. S., y Dudek, F. E. (1999). In vivo intracellular analysis of granule cell axon reorganization in epileptic rats. Journal of Neurophysiology, 81, 712-721.
- Buckmaster, P. S., y Jongen/Relo, A. L. (1999). Highly specific neuron loss preserves lateral inhibitory circuits in the dentate gyrus of kainate-induced epileptic rats. The Journal of Neuroscience , 19(21), 9519-9529.
- Caldecott-Hazard, S., y Engel, J. Jr. (1987). Limbi postictal events: Anatomical substrates and opioid receptor involvement. Prog. Neuro-Psychopharmacol y Biol. Psychiat., 11, 389-418.
- Carlson, N. (1999). Fisiología de la conducta. Barcelona: Ariel.
- Cavalheiro, E. A., Fernandes, M. J., Turski, L., y Naffah-Mazzacoratti, M. G. (1994). Spontaneous recurrent seizures in rats: Amino acid and monoamine determination in the hippocampus. Epilepsia, 35, 1-11.
- Dailey, J. W., y Naritoku, D. K. (1996). Antidepressants and seizures: clinical anecdotes overshadow neuroscience. Biochemical Pharmacology, 52, 1323-1329.
- Davis, M. (1992a). The role of the amygdala in fear and anxiety. Annual Review of Neuroscience, 15, 353-375.
- Davis, M. (1992b). The role of the amygdala in fear potentiated startle: Implications for animal models of anxiety. Trends in Pharmacological Sciences, 13(1).
- Degroot, A., Kashluba, S., y Treit, D. (2001). Septal GABAergic and hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 69, 391-399.
- Degroot, A., y Treit, D. (2002). Dorsal and ventral hippocampal cholinergic systems

- modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. Brain Research, 949, 60-70.
- Degroot, A., y Treit, D. (2003). Septal GABAergic and hippocampal cholinergic systems interact in the modulation of anxiety. Neuroscience, 17, 493-501.
- Dodrill, C. B., y Batzel, L. W. (1986). Interictal behavioral features of patients with epilepsy. Epilepsia, 27(Suppl. 2), S64-S76.
- Domjan, M. (1999). Principios de aprendizaje y conducta. México: International Thompson Editores.
- Engel, J. Jr. (1989). Seizures and Epilepsy. Philadelphia: F.A. Davis.
- Engel, J. Jr., Caldecott-Hazard, S., y Bandler, R. (1986). Neurobiology of behavior: Anatomic and physiological implications related to epilepsy. Epilepsia, 27(Suppl. 2), S3-S13.
- Engel, J. Jr., y Rocha, L. (1992). Interictal behavioral disturbances: a search for molecular substrates. Epilepsy Research, (Suppl. 9), 341-350.
- Engel, J. Jr., y Taylor, D. C. (1997). Neurobiology of behavioral disorders. J. Jr. Engel, y T. A. Pedley (Editors), Epilepsy: A comprehensive textbook (1 ed., pp. 2045-2052). Philadelphia: Lipincott-Raven publishers.
- Feria-Velasco, A., Martínez de Muñoz, D., y Rubio Donadieu, F. (1997). Epilepsia: Aspectos neurobiológicos, médicos y sociales. México: INNyN ; UNAM.
- Fernández-Guasti, A., Ulloa, R. E., y Nicolini, H. (En Prensa). Age differences in the sensitivity to clomipramine in animal model of obsessive-compulsive disorder. Pharmacology, Biochemistry and Behavior.
- Fillol, D., Ghozland, S., Chlube, J., Martin, M., Matthes, H. W. D., Simonin, F., Befort, K., Gaveriaux-Ruff, C., Dierich, A., LeMeur, M., Valverde, O., Maldonado, R., y Kieffer, B. L. (2000). Mice deficient for μ - and δ -opioid receptors exhibit opposing alterations of emotional responses. Nature Genetics, 25, 195-200.
- Flor-Henry, P. (2003). Lateralized temporal-limbic dysfunction and psychopathology. 1976. Epilepsy Behav., 4(5), 578-590.
- Franke, H., y Kittner, H. (2001). Morphological alterations of neurons and astrocytes and changes in emotional behavior in pentylenetetrazol-kindled rats. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 70, 291-303.
- Frerking, M., Petersen, C. C. H., y Nicoll, R. A. (1999). Mechanisms underlying kainate receptor-mediated disinhibition in the hippocampus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96(22), 12917-12922.

- Friedman, L. K., Pellegrini-Giampetro, D. E., Sperber, E. F., Bennett, M. V. L., Moshé, S. L., y Zukin, R. S. (1994). Kainate-induced status epilepticus alters glutamate and GABA_A receptor gene expression in adult rat hippocampus: An *in situ* hybridization study. The Journal of Neuroscience, 14(5), 2697-2707.
- Frost, J. J., Mayberg, H. S., Fisher, R. S., Douglass, K. H., Dannals, R. F., Links, J. M., Wilson, A. A., Ravert, H. T., Rosenblum, A. E., Snyder, S. H., y Wagner, H. N. Jr. (1988). Mu-opiate receptors measured by positron emission tomography are increased in temporal lobe epilepsy. Ann Neurol, 23, 231-237.
- García-Albea. (1999). Historia de la epilepsia. España: Masson.
- Gerlai, R. (2001). Behavioral tests of hippocampal function: simple paradigms complex problems. Behavioural Brain Research, 125, 269-277.
- Goddard, G. V., McIntyre, D. C., y Leech, C. K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. Exp. Neurol., 25, 295-330.
- Goldstein, M. A., y Harden, C. L. (2000). Epilepsy and Anxiety. Epilepsy y Behavior, 1, 228-234.
- González de Alba, L. (2001). El burro de Sancho y el gato de Schrödinger. México: Páidos.
- Graeff, F. G., Ferreira Netto, C., y Zangrossi, H. Jr. (1998). The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 23, 237-246.
- Heggli, D., y Malthé-Sorensen D. (1982). Systemic injection of kainic acid: effect on neurotransmitter markers in piriform cortex, amygdaloid complex and hippocampus and protection by cortical lesioning and anticonvulsants. Neuroscience, 7(5), 1257-1264.
- Heisler, L. K., Chu, H.-M., Brennan, T. J., Danao, J. A., Bajwa, P., Parsons, L. H., y Tecott, L. H. (1998). Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 15049-15054.
- Helfer, V., Deransart C., Marescaux, C., y Depaulis, A. (1996). Amygdala kindling in the rat: Anxiogenic-like consequences. Neuroscience, 73(4), 971-978.
- Hellier, J. L., Patrylo, P. R., Dou, P., Nett, M., Rose, G. M., y Dudek, F. E. (1999). Assessment of inhibition and epileptiform activity in the septal dentate gyrus of freely moving behaving rats during the first week after kainate treatment. The Journal of Neuroscience, 19(22), 10053-10064.
- Helmstadter, C. (2001). Behavioral aspects of frontal lobe epilepsy. Vol. 2, 384-395.

- Hermann, B. P., Seidenberg, M., Haltiner, A., y Wyler, A. R. (1991). mood state in unilateral temporal lobe epilepsy. Biological Psychiatry, 30, 1205-1218.
- Herzog, A. G. (1999a). Psychoneuroendocrine aspects of temporolimbic epilepsy. *Part II: Epilepsy and Reproductive Esteroids*. Psychosomatics, 40(2), 102-108.
- Herzog, A. G. (1999b). Psychoneuroendocrine aspects of temporolimbic epilepsy. *Part I. Brain, reproductive steroids and emotions*. Psychosomatics, 40(2), 95-101.
- Herzog, A. G. (1999c). Psychoneuroendocrine aspects of temporolimbic epilepsy. *Part III: Case reports*. Psychosomatics, 40(2), 109-116.
- Hollmann, M., y Heinemann, S. (1994). Cloned glutamate receptors. Annual Review of Neuroscience, 17, 31-108.
- Hopkins, K. J., Wang, G., y Schmued, L. C. (2000). Temporal progression of kainic acid induced neuronal and myelin degeneration in the rat forebrain. Brain Res. 864(1), 69-80 .
- Jetty, P. V., Charney, D. S., y Goddard, A. W. (2001). Neurobiology of generalized anxiety disorder. The Psychiatric Clinics of North America, 24(1), 75-97.
- Johnston, D., y Amaral, D. G. (1998). Hippocampus. (4 ed., pp. 417-458). Oxford: Oxford University Press.
- Jung, M. E., Lal, H., y Gatch, M. B. (2002). The discriminative stimulus effects of pentylenetetrazol as a model of anxiety: Recent developments. Neuroscience and Biobehavioral Reviews , 26, 429-439.
- Kalynchuk, L. E. (2000). Long term amygdala kindling in rats as a model for the study of interictal emotionality in temporal lobe epilepsy. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 24, 691-704.
- Kalynchuk, L. E., Davis, A. C., Gregus, A., Taggart, J., Dodd, C. C., Wintink, A. J., y Marchant, E. G. (2001). Hippocampal involvement in the expression of kindling-induced fear in rats. Neuroscience and Biobehavioral Reviews , 25, 687-696.
- Kalynchuk, L. E., Pinel, J. P. J., y Treit, D. (1998). Long-term kindling and interictal emotionality in rats: effects of stimulation site. Brain Research, 779, 149-157.
- Kalynchuk, L. E., Pinel, J. P. J., Treit, D., Barnes, S. J., McEachern, J. C., y Kippin, T. E. (1998). Persistence of the interictal emotionality produced by long-term amygdala kindling in rats. Neuroscience, 85(4), 1311-1319.
- Kalynchuk, L. E., Pinel, J. P. J., Treit, D., Kippin, T. E., y Kippin, T. E. (1997). Changes in emotional behavior produced by long-term amygdala kindling in rats. Biological Psychiatry, 41, 438-451.

- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., y Jesell, T. M. (1991). Principles of neuronal science. Holland: Elsevier .
- Kash, S. F., Johnson, R. S., Tecott, L. H., Noebels, J. L., Mayfield, R. D., Hanahan, D., y Baekkskoz, S. (1997). Epilepsy in mice deficient in the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *94*, 14060-14065.
- Kash, S. F., Tecott, L. H., Hodges, C., y Baekkskoz, S. (1999). Increased anxiety and altered responses to anxiolytics in mice deficient in the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *99*, 1698-1703.
- Kish, S. J., Sperk, G., y Hornykiewicz, O. (1983). Alterations in benzodiazepine and GABA receptor binding in rat brain following system injection of kainic acid. 1303-1309.
- Kling, M. A., Carson, R. E., Borg, L., Zemetkin, A., Matochik, J. A., Schluger, J., Herscovitch, P., Rice, K. C., Ho, A., Eckelman, W. C., y Kreek, M. J. (2000). Opioid receptor imaging with positron emission tomography and [(18)F]cyclofoxy in long-term, methadone-treated former heroin addicts. J Pharmacol Exp Ther. *295*(3), 1070-1076.
- Kobayashi, M., y Buckmaster, P. S. (2003). Reduced inhibition of dentate granule cells in a model of temporal lobe epilepsy. The Journal of Neuroscience, *23*(6), 2440-2452.
- Kopchia, K. L., Altman, H. J., y Commisaris, R. L. (1992). Effects of lesions of the central nucleus of the amygdala on anxiety-like behaviors in the rat. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, *43*, 453-461.
- Korz, V., y Frey, J. U. (2003). Stress-related modulation of hippocampal long-term potentiation in rats: involment of adrenal steroid receptors. The Journal of Neuroscience, *23*(19), 7281-7287.
- Lalonde, R. (2002). The neurobiological basis of spontaneous alternation. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, *26*, 91-104.
- Lamberty, Y., y Klitgaard, H. (2000). Consequences of pentylenetetrazole kindling on spatial memory and emotional responding in rat. Epilepsy y Behavior, *1*, 256-261.
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. Annual Review of Neuroscience, *23*, 155-184.
- Lothman, E. W., Collins, R. C., y Ferrendelli, J. A. (1981). Kainic acid-induced limbic seizures: electroencephalographic studies. Neurology, *(31)*, 806-812.
- Lowenstein, D. H. (2001). Structural reorganization of hippocampal networks caused by seizure activity. International Review of Neurobiology, *15*, 209-235.

- Lynch, M., y Sutula, T. (2000). Recurrent excitatory connectivity in the dentate gyrus of kindled and kainic acid-treated rats. 693-704.
- Madar, I., Lesser, R. P., Krauss, G., Zubieta, J. K., Lever, J. R., Kinter, C. M., Ravert, H. T., Musachio, J. L., Mathews, W. B., Dannals, R. F., y Frost, J. J. (1997). Imaging of delta- and mu-opioid receptors in temporal lobe epilepsy by positron emission tomography. Ann Neurol, 41(3), 358-367.
- Manchanda, R. (2002). Psychiatric disorders in epilepsy: clinical aspects. Epilepsy y Behavior, 3, 39-45.
- Marsh, L., y Rao, V. (2002). Psychiatric complications in patients with epilepsy: a review. Epilepsy Research, 49, 11-33.
- Mayanagi, Y., Watanaba, E., Nagahori, Y., y Nankai, M. (2001). Psychiatric and neuropsychological problems in epilepsy surgery: analysis of 100 cases that underwent surgery. Epilepsia, 42(Suppl 6), 19-23.
- Mccormick, D., y Contreras D. (2001). On the cellular and network bases of epileptic seizures. Annu REv Physiol, 63, 815-846.
- McDougle, C. J. (1999). The neurobiology and treatment of obsessive-compulsive disorder. (pp. 518-533). Oxford: Oxford University Press.
- McDougle, C. J., Barr, L. C., Goodman, W. K., y Price, L. H. (1999). Possible role of neuropeptides in obsessive compulsive disorder. Psychoneuroendocrinology, 24, 1-24.
- McEwen, B. S. (1999). The effects of stress on structural and functional plasticity in the hippocampus. (pp. 475-493). Oxford: Oxford University Press.
- McGrath, M. J., Campbell, K. M., PArks, C. R. I., y Burton, F. H. (2000). Glutamatergic drugs exacerbate symptomatic behavior in a transgenic model of comorbid Tourette's syndrome and obsessive-compulsive disorder. Brain Research, 877, 23-30.
- Menard, J., y Treit, D. (1999). Effects of centrally anxiolytic compounds in animal models of anxiety. Vol. 23, 591-613.
- Menard, J., y Treit, D. (2001). The anxiolytic effects of intra-hippocampal midazolam are antagonized by intra-septal L-glutamate. Brain Research, 888, 163-166.
- Mendez, M. F., Doss, R. C., Taylor, J. L., y Arguello, R. (1993). Relationship of seizure variables to personality disorders in epilepsy. The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences, 5, 283-286.
- Mikati, M. A., Tarif, S., Lteif, L., y Jawad, M. A. (2001). Time sequence and types of memory deficits after experimental status epilepticus. Epilepsy Research, 43, 97-

- Moore, P., y Baker, G. A. (2002). The neuropsychological and emotional consequences of living with intractable temporal lobe epilepsy: implications for clinical management. Seizure, *11*, 224-230.
- Nadler, J. V. (1981). Kainic acid as a tool for the study of temporal lobe epilepsy. Life Sciences, *29*, 2031-2042.
- Nakazato, T., y Akiyama, A. (1997). In vivo electrochemical measurement of the long-lasting release of dopamine and serotonin induced by intrastriatal kainic acid. Journal of Neurochemistry, *69*, 2039-2047.
- Nickel, P. V., y Uhde, T. W. (1991). Anxiety disorders and epilepsy. (pp. 67-84). Wiley-Liss, Inc.
- Olson, G. A., Olson, R. D., y Kastin, A. J. (Nov-Dec). Endogenous opiates: 1988. Peptides. *10*(6), 1253-1280.
- Ondarza, R., Trejo-Martinez, D., Corona-Amezcuca, R., Briones, M., y Rocha, L. (2002). Evaluation of opioid peptide and muscarinic receptors in human epileptogenic neocortex: an autoradiography study. Epilepsia, *43*(Suppl. 5), 230-234.
- Parks, C. L., Robinson, P. S., Sibille, E. L., Shenk, T., y Tóth, M. (1998). Increased anxiety of mice lacking the serotonin_{1A} receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *95*, 10734-10739.
- Piazzini, A., Canevini, M. P., Maggiori, G., y Canger, R. (2001). Depression and anxiety in patients with epilepsy. Epilepsy y Behavior, *2*, 481-489.
- Piekut, D. T., y Phipps, B. (1999). Corticotropin-releasing factor--immunolabeled fibers in brain regions with localized kainate neurotoxicity. Acta Neuropathol (Berl), *98*(6), 622-8.
- Pinel, J. P. J., y Cheung, K. F. (1977). Controlled demonstration of metrazol kindling. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, *6*(5), 599-600.
- Pérez-Crúz, C., y Rocha, L. (2002). Kainic acid modifies α -receptor binding in young, adult and elderly rat brain. Cellular and Molecular Neurobiology, *22*(5/6), 741-753.
- Quiske, A., Helmstaedter, C., Lux, S., y Elger, C. E. (2000). Depression in patients with temporal lobe epilepsy is related to mesial temporal sclerosis. Epilepsy Research, *39*, 121-125.
- Ragnauth, A., Schuller, A., Morgan, M., Chan, J., Ogawa, S., Pintar, J., Bodnar, R. J., y Pfaff, D. W. (2001). Female preproenkephalin-knockout mice display altered emotional responses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *98*(4), 1958-1963.

- Ramboz, S., Oosting Ronald, Amara, D. A., Kung, H. F., Blier, P., Mendelsohn, M., Mann, J. J., Brunner, D., y Hen, R. (1998). Serotonin receptor 1A knockout: An animal model of anxiety-related disorder. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 14476-14481.
- Rapoport, J. L. (1989). The biology of obsessions and compulsions. Scientific American, 63-69.
- Rocha, L., Ackermann, R. F., Nassir, Y., Chugani, H. T., y Engel, J. Jr. (1993). Characterization of mu opioid receptor binding during amygdala kindling in rats and effects of chronic naloxone pretreatment: an autoradiographic study. Epilepsy Res., 14(3), 195-208.
- Rocha, L., Evans, C. J., y Maidment, N. T. (1997). Amygdala kindling modifies extracellular opioid peptide content in rat hippocampus measured by microdialysis. Journal of Neurochemistry, 68, 616-624.
- Rocha, L., y Maidment, N. T. (2003). Opioid peptide release in the rat hippocampus after kainic acid-induced status epilepticus. Hippocampus, 13, 472-480.
- Rodríguez-Manzo, G., López-Ruvalcaba, C., y Fernández-Guasti, A. (1999). Anxiolytic-like effect of ejaculation under various sexual behaviour conditions in the male rat. Physiol Behav, 67, 651-657.
- Sánchez Caro, J. (1991). Historia de la epilepsia. Sinopsis neuropsiquiátrica. Las epilepsias, un estudio multidisciplinario (pp. 55-117). Madrid.
- Sarnyai, Z., Sibille, E. L., Pavlides, C., Fenster, R. J., McEwen, B. J., y Tóth, M. (2000). Impaired hippocampal-dependant learning and functional abnormalities in the hippocampus in mice lacking serotonin_{1A} receptors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97(26), 14731-14736.
- Seibell, P. J., Demarest, J., y Rhoads, D. E. (2003). 5-HT_{1A} receptor activity disrupts spontaneous alternation behavior in rats. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 74, 559-564.
- Snyder, S. (1996). Drugs and the brain. EUA: Scientific American Paperback.
- Sperk, G. L. H., Baran, H., Kish, S., Seitelberger, F., y Hornykiewicz, O. (1983). Kainic acid induced seizures: Neurochemical and histopathological changes. Neuroscience, 8(4), 819-835.
- Stafstrom, C. E., Chronopoulos, A., Thurber, S., Thompson, J. L., y Holmes, G. L. (1993). Age-dependent cognitive and behavioural deficits after kainic acid seizures. Epilepsia, 34(3), 420-432.
- Stein, D. J. (2002). Obsessive-compulsive disorder. Lancet, 360, 397-405.

- Sutula, T. P. (1990). Experimental models of temporal lobe epilepsy: new insights from the study of kindling and synaptic reorganization. Epilepsia, 31(Suppl. 3), S45-S54.
- Szyndler, J., Rok, P., Maciejak, J., Czlonkowska, A. I., Sienkiewicz-Jarosz, H., Wisłowa, A., Zienowicz, M., Lehner, M., Bidzinski, W., y Plaznik, A. (2002). Effects of pentylenetetrazol-induced kindling of seizures on rat emotional behavior and brain monoaminergic systems. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 73, 851-861.
- Taylor, D. C. (1997). Overview: Psychiatric Issues. Epilepsy: A comprehensive textbook (pp. 2039-2043). Philadelphia: Lipincott-Raven Publishers.
- Tebartz van Elst, L., Woerman, F. G., Lemieux, L., y Trimble, M. R. (1999). Amygdala enlargement in dysthymia- A volumetric study of patients with temporal lobe epilepsy. Biological Psychiatry, 46, 1614-1623.
- Treit, D., Aujla, H., y Menard, J. (1998). does the bed nucleus of the stria terminalis mediate fear behaviors? Behavioral Neuroscience, 112(2), 379-386.
- Treit, D., y Menard, J. (1997). Dissociations among the anxiolytic effects of septal, hippocampal, and amygdaloid lesions. Behavioral Neuroscience, 111(3), 653-658.
- Treit, D., Pesold, C., y Rotzinger, S. (1993a). Dissociating the anti-fear effects of septal and amygdaloid lesions using two pharmacologically validated models of rat anxiety. Behavioral Neuroscience, 107(5), 770-785.
- Treit, D., Pesold, C., y Rotzinger, S. (1993b). Noninteractive effects of diazepam and amygdaloid lesions in two animal models of anxiety. Behavioral Neuroscience, 107(6), 1099-1105.
- Treit, D., Pinel, J. P. J., y Fibiger, H. C. (1981). Conditioned defensive burying: A new paradigm for the study of anxiolytic agents. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 15, 619-626.
- Trimble, M. R. (2002). On the use of tranquillisers in epilepsy. Epilepsia, 43(Suppl 2), 25-27.
- Uno, H., Tarara, R., Else, J. G., Suleman, M. A., y Sapolsky, R. M. (1989). Hippocampal damage associated with prolonged and fatal stress in primates. J Neurosci., 9(5), 1705-1711.
- Vaccarino, A. L., y Kastin, A. J. (2001). Endogenous opiates: 2000. 22, 2257-2328.
- Van Bogaerdt, P., DE Tiège X., Vanderwien, J. M., Damhaut, P., Schiffman, S. N., y Goldman, S. (2001). Comparative study of hippocampal neuronal loss and in vivo binding of 5-HT_{1a} receptors in the KA model of limbic epilepsy in the rat.

- Epilepsy Research, 47, 127-139.
- Vindrola, O., Briones, R., Asai, M., y Fernandez-Guardiola, A. (1981). Amygdaloid kindling enhances the enkephalin content in the rat brain. Neuroscience Letters, 21(1), 39-43.
- Vizi, E. S., y Kiss, J. P. (1998). Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions. Hippocampus, 8, 566-607.
- Wuarin, J.-P., y Dudek, F. E. (1996). Electrographic seizures and new recurrent excitatory circuits in the dentate gyrus of hippocampal slices from kainate-treated epileptic rats. The Journal of Neuroscience, 16(14), 4438-4448.
- Yadin, E., Friedman, E., y Bridger, WH. (1991). Spontaneous alternation behavior: an animal model for obsessive-compulsive disorder? Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 36, 311-315.
- Zieglansberger, W., French, E. D., Siggins, G. R., y Bloom, F. E. (1979). Opioid peptides may excite hippocampal pyramidal neurons by inhibiting adjacent inhibitory interneurons. Science, 205, 415-417.