

00387



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO DE LA CARBAMAZEPINA SOBRE
LA ORGANIZACIÓN DEL CICLO VIGILIA-SUEÑO,
EN UN MODELO DE EPILEPSIA INDUCIDA
POR EL ÁCIDO KAÍNICO.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)**

P R E S E N T A

M. en C. ALFONSO BENITO ALFARO RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: Dr. EN C. FRUCTUOSO AYALA GUERRERO

MÉXICO, D. F.

NOVIEMBRE, 2004



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.

COMITÉ TUTORIAL

DR. FRUCTUOSO AYALA GUERRERO

DR. EMILIO ARCH TIRADO

DR. LUIS CAMILO RÍOS CASTAÑEDA

† DR. AUGUSTO FERNÁNDEZ GUARDIOLA

DEDICATORIA

A Ilián por su apoyo y por motivarme a seguir siempre adelante.

A mis hijos:

A Héctor, por refrescarme la memoria de mis días de infancia.

A Blanca por su inocencia y por su dedicación al estudio.

A Marianela por ser mi ángel guardián.

Y por último, a los Grandes Maestros de la humanidad, que me han conducido y guiado con su ejemplo a lo largo de toda mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fructuoso Ayala Guerrero por la dirección del trabajo, por el préstamo del equipo para realizar los registros electroencefalográficos y sobre todo por sus invaluable consejos, sin los cuales este trabajo no hubiera sido posible.

Al Dr. Emilio Arch Tirado por su confianza y apoyo como investigador además de su contribución a la mejora del trabajo.

Al Dr. Francisco Hernández Orozco por darme la libertad de desarrollarme como investigador.

Al Dr. Miguel Ángel Collado Corona por brindarnos la oportunidad de desarrollarnos académicamente.

Al Instituto de la Comunicación Humana por su invaluable apoyo para el buen término de éste trabajo.

A la Q.F.B. Norma Labra Ruiz por su colaboración y asistencia en la realización de todo el trabajo.

A la M. en C. Angélica González Maciel por el apoyo brindado en la realización de los estudios histo-morfológicos.

A la M. en C. Beatriz Pérez Guillé y a la M.V.Z. Rosa Eugenia Rosales Soriano por las cirugías para la toma de muestras.

A la M. en C. Miriam Carrasco Portugal por su apoyo en las mediciones comatográficas.

Al Biól. Leonel Vargas por su colaboración durante los registros.

Al Instituto Nacional de Pediatría por prestar sus instalaciones.

A la Q.F.B. Ilián Alfaro por la revisión y corrección del escrito.

A mis sinodales:

DR. FRUCTUOSO AYALA GUERRERO

DR. EMILIO ARCH TIRADO

DR. CAMILO RIOS CASTAÑEDA

DRA. CLORINDA ARIAS ALVAREZ

DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES

DR. JOAQUIN MANJARRÉZ MARMOLEJO

DR. JOSÉ DE JESÚS MORALES MARTÍNEZ

Por su trayectoria académica, por todos sus consejos, observaciones y correcciones hechas al presente trabajo.

**IN MEMORIAM AL
DR. AUGUSTO FERNÁNDEZ GUARDIOLA**

RESUMEN

Dentro de los modelos biológicos más utilizados para la inducción de la epilepsia, se ha reportado la administración del ácido Kainico, entre otros. Dicho modelo se ha propuesto por su potencia para inducir un síndrome caracterizado por un *status epilepticus* límbico agudo con el subsiguiente daño neuronal cerebral, similar al que se presenta en la epilepsia del lóbulo temporal en humanos.

Por otro lado, se ha demostrado clínica y experimentalmente que la carbamazepina es un fármaco efectivo en el control de crisis psicomotoras y de gran mal. Debido a que dicho fármaco es uno de los medicamentos más utilizados como antiepiléptico, se consideró importante analizar su efecto ejercido sobre la actividad eléctrica cerebral y patrones de sueño, en un modelo de epilepsia desencadenada por la administración de ácido Kainico.

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la administración de carbamazepina sobre los patrones de sueño en un modelo de epilepsia inducida por ácido kainico, además de correlacionar la farmacocinética y farmacodinamia. El trabajo se llevó a cabo en el Instituto de la Comunicación Humana y en el Instituto Nacional de Pediatría.

En el presente trabajo se utilizaron 30 ratas macho de la cepa Wistar de 250 a 280 g a 10 de las cuales se les implantaron crónicamente, electrodos bipolares en la corteza motora para registrar la actividad cerebral (EEG) y en los músculos del cuello para obtener la actividad muscular (EMG). A este primer grupo se les tomó un registro electroencefalográfico desde el primer día, control, el segundo día se les administró ácido kainico (10 mg/kg) para inducir las crisis epilépticas y se les registró hasta los 5 días. A un segundo grupo de 10 ratas también se les implantó crónicamente electrodos para el EEG y EMG, se les registró el primer día, control, y en el segundo día se les administró carbamazepina 30 min. antes de inyectares el AK, se registraron durante tres días, tiempo durante el cual se recuperaron. A un tercer grupo de 10 ratas se les implantó una cánula en la vena yugular, de donde se les tomó una muestra basal y enseguida se les administró carbamazepina (25 mg/kg), para iniciar la toma de muestras de sangre a los; 10, 20, 40 minutos y a las 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36 y 48 horas después de la administración de carbamazepina, para el análisis farmacocinético. Para probar las diferencias entre los parámetros farmacodinámicos y farmacocinéticos obtenidos se utilizó una prueba de "t" de student, para datos no pareados con un nivel de significancia de $*p \leq 0.05$. Y para comparar las diferencias entre los grupos de los registros del EEG, los datos se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía, $*p < 0.01$, $*p < 0.001$. Posteriormente se procesaron los cerebros para su análisis histológico, para observar el daño producido por ambos fármacos. Los resultados mostraron una ausencia total de sueño el primer día experimental solo con AK, mientras que se encontró una recuperación parcial del sueño de Ondas Lentas, durante el primer día experimental cuando se les administró la CBZ 30 min. antes del AK. El análisis histológico mostró daños similares a los presentados por la epilepsia del lóbulo temporal en humanos. El efecto de la carbamazepina fue favorable ya que por medio de la comparación de la cinética de la CBZ con las crisis, se mostró que éstas disminuyeron cuando se aplicó la CBZ por vía oral antes de la aplicación de AK por vía subcutánea.

Conclusión.- La CBZ actúa disminuyendo las crisis aunque solo existe una recuperación parcial del sueño, y es el sueño MOR el que se ve más afectado.

ABSTRACT

Sleep patterns are disturbed by epileptic attacks, due to the magnitude of the seizures in both humans and animals. Therefore the aim of this work is to analyze the effect of carbamazepine on sleep patterns.

The experimental protocols used 30 male Wistar Rats weighing between 280 and 320 g. Under general anaesthesia, animals were chronically implanted with stainless steel electrodes placed in the right sensorimotor cortex for EEG recording, and in the neck muscles to obtain the electromyogram (EMG). Three recordings for 10 continuous hours were made from 09:00 to 19:00 h under the following conditions: (I) Control; (II) after administration of kainic acid (10 mg/kg sc) alone; and (III) with kainic acid injected in carbamazepine-pretreated animals (25 mg/kg). Poly-graphic recordings were analyzed visually and three different states of vigilance were identified: Wakefulness (W), Slow Wave Sleep (SWS) and Rapid Eye Movement (REM) sleep. Total time spend by animals in each state of vigilance was obtained under the above conditions. Statistical analysis. The electrographic parameters of the different phases of the sleep were analyzed by a ANOVA TEST. Differences of $*p \leq 0.01$ and $**p \leq 0.001$ were considered to statistical significant.

Our results showed that seizures induced a total inhibition of sleep, since both SWS and REM sleep were absent through out the first day after kainic acid administration. This effect was partially reversed by carbamazepine, since pretreated animals were able to show SWS.

Our conclusion is that, besides decreasing seizure intensity, carbamazepine facilitates partial recovery of sleep.

INDICE

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN.....	6
DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS EPILEPSIAS:	
A. Definición de crisis y epilepsia.....	8
B. Clasificación de las epilepsias.....	9
CONSIDERACIONES FISIOPATOLÓGICAS.....	11
SUEÑO Y EPILEPSIA.....	12
CARACTERIZACIÓN DE LOS PATRONES DE SUEÑO.....	13
FASES DE SUEÑO.....	14
FASES DE SUEÑO EN LA RATA.....	18
SUEÑO Y EPILEPSIA.....	20
EFFECTO DEL SUEÑO SOBRE LA EPILEPSIA.....	22
Crisis generalizadas.....	23
Crisis parciales.....	24
EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL.....	25
MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA.....	26
EL ÁCIDO KAÍNICO COMO MODELO CONVULSIONANTE.....	36
PAPEL DEL GLUTAMATO COMO	
NEUROTRANSMISOR EXCITADOR.....	41
RECEPTORES IONOTRÓPICOS DE GLUTAMATO.....	42
1.-Receptores de NMDA.....	42
2. -Receptores de AMPA.....	44
3.- Receptores de kainato.....	45
Familia de subunidades de	
receptores de kainato: GLUR5-7, KA1 Y KA2.....	45
Diversidad estructural.....	46
Distribución cerebral de las	
subunidades del receptor de kainato.....	49

FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS (AEDS).....	50
Mecanismo de los fármacos antiepilépticos.....	51
CARBAMAZEPINA COMO ANTIEPILÉPTICO	
DE PRIMERA ELECCIÓN.....	53
Mecanismo de acción.....	53
Farmacocinética.....	56
JUSTIFICACIÓN.....	58
OBJETIVO GENERAL.....	59
Objetivos específicos.....	59
HIPÓTESIS.....	59
MATERIAL Y MÉTODOS.....	60
Procedimiento.....	60
Análisis de los datos del EEG.....	62
Técnica histológica.....	63
Evaluación de la farmacocinética de la CBZ.....	63
Determinación de carbamazepina en plasma.....	65
RESULTADOS.....	67
Efecto del ácido kaínico sobre los patrones de sueño.....	67
Efecto de la carbamazepina + ác kaínico sobre los patrones de sueño.....	69
Hallazgos Neuroanatómicos.....	77
Resultados de la Farmacocinética de la CBZ	
Validación del método de medición de la CBZ.....	83
curvas de calibración.....	83
Análisis de las concentraciones sanguíneas de cbz.....	86
Evaluación de las crisis.....	87
DISCUSIÓN.....	88
CONCLUSIÓN.....	100
REFERENCIAS.....	101
ANEXO.....	127
ARTÍCULO PUBLICADO.....	135

INTRODUCCIÓN

La epilepsia es una enfermedad tan antigua como la humanidad. La palabra **epilepsia** se deriva de un verbo irregular *επιλαμβάνειν* (epilamvanein) "ser sobrecogido brutalmente". Esta terminología derivada del pasado, noción que representa todas las enfermedades con ataques causados por Dios o espíritus malignos, usualmente como castigo. Los ataques son el ejemplo más vivido de posesión por el demonio, la epilepsia fue considerada "la enfermedad sagrada", ya en el siglo V A.C. (Hipócrates).

La epilepsia de origen, no es una enfermedad específica, o un síndrome simple, sino una amplia categoría de síntomas complejos producidos por numerosos desórdenes en las funciones del cerebro que pueden ser seguidos por una variedad de procesos patológicos. Los términos, *trastornos convulsivos*, *trastornos de ataque* y *ataques cerebrales* son sinónimos de epilepsia; todos se refieren a episodios proximales recurrentes de disfunción cerebral manifestada por alteraciones estereotipadas en el comportamiento (McNamara y Shin, 1994).

Se considera como una enfermedad neurológica sin preferencia por edad, sexo, raza ó situación geográfica. Es uno de los trastornos neurológicos que requiere atención médica constante. La prevalencia de ésta enfermedad en el ámbito mundial va de 4 a 18 enfermos por cada 1 000 habitantes. En México su prevalencia reportada está en el orden de 18 por cada 1 000 habitantes (1.8%), (C.E.P.I.L.A.E., 1993, H.C.P.R., 1997, Rodríguez-Rivera, 1995, Hittencourt, 1995).

Los factores de riesgo de ésta enfermedad han hecho que la edad más frecuente de su aparición sea la infancia y la adolescencia debido a los traumas obstétricos antes o durante el alumbramiento, a los traumas craneales, a las encefalitis o meningoencefalitis y en algunos casos al parasitismo cerebral como la cisticercosis (H.C.P.R., 1997, Rodríguez-Rivera, 1995).

En muchos casos, las crisis epilépticas se complican con otras enfermedades neurológicas intercurrentes o con lesiones cerebrales (Penfield y Jasper, 1954); ocasionando una gran variedad de crisis. Para el tratamiento de cada tipo de crisis se utilizan distintos fármacos los cuales originan efectos

secundarios indeseables, además de su acción anticonvulsiva (McNamara, 1994), uno de los cuales es el trastorno del sueño.

Actualmente un gran número de fenómenos clínicos son reconocidos como crisis epilépticas, como las crisis mioclónicas y atónicas las cuales son poco conocidas y pueden reflejar mecanismos neuronales que son diferentes a los procesos fisiopatológicos tradicionalmente considerados "epilépticos". Una variedad de condiciones o *epilepsias* han sido clasificadas y definidas no solamente por el tipo de crisis manifestada sino también por otras características clínicas asociadas. Los *Síndromes epilépticos* específicos han sido identificados por sus tipos de crisis características, patrones de crisis recurrentes, edad en la que se iniciaron los ataques, signos neurológicos asociados, registros electroencefalográficos (EEG), presencia o ausencia de ocurrencia familiar y pronósticos. Epilepsia y síndromes epilépticos son ampliamente divididos en desórdenes *idiopáticos* y *sintomáticos*. La epilepsia *idiopática* es generalmente benigna en el sentido que no es asociada con lesiones cerebrales, anormalidades neurológicas y daño mental y tiende a ser autolimitada o responde con facilidad a fármacos antiepilépticos. En la epilepsia *sintomática* las crisis son la consecuencia de una lesión identificable u otra etiología específica. Cuando la epilepsia es sintomática pero comúnmente de etiología específica desconocida, se determina *criptogénica* (Engel, 1991).

Las crisis epilépticas en turno, representan las manifestaciones clínicas que resultan de excesivas, sincrónicas y anormales descargas de las neuronas que se localizan predominantemente en el córtex cerebral. Tal actividad paroximal anormal es usualmente intermitente y periódica.

Las crisis epilépticas reflejan la hiperexcitabilidad de neuronas o circuitos neuronales en una región específica o difusa por todo el cerebro, principalmente para crisis generalizadas y parciales (Niedermeyer, 1987).

DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS EPILEPSIAS:

A. Definición de crisis y epilepsia

Una crisis epiléptica es la manifestación clínica que aparece en relación a una alteración del funcionamiento neuronal autolimitada. Dependiendo del área cerebral afectada las crisis tienen manifestaciones diversas (motoras, sensitivas, psíquicas, etc.). Las crisis se originan por muy diversos mecanismos; como son la sobreexcitación neuronal o defectos en los mecanismos de inhibición neuronal. La epilepsia es un trastorno del sistema nervioso central caracterizada por la repetición de dos o más crisis epilépticas no provocadas por una causa inmediatamente identificable. La ocurrencia de una única crisis no permite el diagnóstico de epilepsia. Sin embargo, en ciertos casos se puede considerar el tratamiento prolongado tras una única crisis si el diagnóstico de sospecha es de muy probable repetición en un breve espacio de tiempo o si una nueva crisis pudiera representar un serio riesgo para el paciente.

El diagnóstico de epilepsia se basa fundamentalmente en una anamnesis y exploración física detenidas que son complementadas con un electroencefalograma (EEG) y una prueba de imagen estructural. La resonancia magnética cerebral (RM) es la prueba de primera elección (Drislane y Schomer, 1994). La tomografía axial computarizada es parte de la rutina diagnóstica en urgencias pero no debe sustituir a la RM para la evaluación completa (Fountain y Lothman, 1995).

En algunos casos de epilepsias benignas (ausencias infantiles, epilepsia mioclónica juvenil, epilepsia rolándica benigna) con presentación típica, no es necesario realizar pruebas de imagen.

Una vez que se diagnostica la epilepsia, en la mayoría de los casos, se recomienda un tratamiento prolongado. Excepciones a esta regla son algunas epilepsias benignas de la infancia. El tratamiento se mantiene por lo general por un período de dos a cinco años.

Alrededor de un 50% de los pacientes responden de forma completa al tratamiento inicial con un sólo fármaco antiepiléptico (Fujikawa y Itabashi, 1994,

Kaplan, 1994,) aunque la posibilidad de respuesta depende en gran medida del tipo de síndrome epiléptico y de la etiología. Al paciente que no presenta ninguna crisis durante este período de 2-5 años se le considera en remisión. En la mayor parte de las epilepsias se puede considerar, tras este período, reducir la medicación lentamente hasta su supresión total (Koepp y cols, 1998). De estos pacientes en remisión, aproximadamente un 30% recurrirán (Krumholz y cols, 1995).

B. Clasificación de las epilepsias

La epilepsia se clasifica por tipos de crisis y en síndromes epilépticos definidos que engloban por lo general varios tipos de crisis (Lee, 1985, Litt y cols, 1994)

1. Clasificación de las crisis epilépticas

Las crisis epilépticas pueden ser parciales o generalizadas (Anexo A):

Las crisis parciales son aquellas que se originan en un lugar concreto del cerebro (tienen un foco) y son, por tanto, de origen temporal, frontal, occipital o parietal. Hay dos tipos de crisis parciales: simples, si no se asocian a pérdida de contacto con el medio externo, o complejas, si hay una alteración de la conciencia con pérdida de la capacidad de respuesta y memoria durante la crisis. Las crisis parciales simples consisten en sensaciones o percepciones anormales de tipo visual, sensitivo, psíquico u olfativo, o en una actividad motora (movimientos clónicos, posturas tónicas). Las crisis parciales complejas se caracterizan por mirada ausente y la realización de actos más o menos complejos y repetitivos (automatismos manuales desorganizados u organizados, movimientos de deglución o chupeteo, etc.) y amnesia de lo sucedido durante el período que dura la crisis y el inmediato período postcrítico. El 50% de los pacientes con crisis parciales presentan generalización secundaria y esta generalización ocurre de forma variable en función del control de su epilepsia.

Las crisis generalizadas pueden ser convulsivas (como son las crisis tónico-clónicas, mioclónicas o tónicas) o no convulsivas (ausencias o atónicas). La Comisión de Clasificación de la Liga Internacional Contra la Epilepsia (C.E.P.I.L.A.E.1989) ha publicado una clasificación de las crisis y de los síndromes epilépticos (Lothman, 1990) y un glosario de términos (Lowenstein y Aldredge, 1998). Sin embargo, esta nueva clasificación es todavía una propuesta que, de

materializarse en los próximos años, sufrirá numerosos cambios. Por ello, no hemos considerado prudente su inclusión en este texto.

2. Clasificación sindrómica y etiológica

Las epilepsias se clasifican en síndromes que agrupan pacientes con una presentación y curso similar aunque con frecuencia de diversas etiologías (Anexo B).

Globalmente se clasifican en epilepsias localizadas o focales y en epilepsias generalizadas. Además, las epilepsias se clasifican según su etiología del modo siguiente:

1. Idiopáticas: sin etiología conocida, en las que se postula un factor genético.
2. Sintomáticas: epilepsias en personas con historia de un daño neurológico previo que potencialmente aumenta el riesgo de epilepsia, tal y como son el traumatismo craneoencefálico, accidente cerebro-vascular, meningitis, encefalitis, una encefalopatía estática (de origen pre o perinatal manifestada con retraso mental o parálisis cerebral infantil) o una encefalopatía evolutiva (neurodegenerativa o metabólica).
3. Criptogénicas: son aquellas epilepsias en las que no se encuentra un factor de riesgo pero en las que se piensa puede haber una etiología. El ejemplo más típico es la epilepsia del lóbulo temporal asociada a esclerosis del hipocampo sin factor etiológico conocido.

Asimismo, las crisis, pero no la epilepsia, pueden ser sintomáticas agudas si ocurren en cercanía temporal - una semana - y están asociadas con una afectación neurológica de cualquier índole, como, por ejemplo, una infección del sistema nervioso central, un traumatismo craneal, privación de alcohol, accidente cerebro-vascular, o una alteración metabólica o tóxica.

Es importante distinguir entre crisis agudas sintomáticas y epilepsia sintomática. Las primeras son reactivas y no precisan tratamiento prolongado. Sin embargo, la epilepsia sintomática implica en su definición la ocurrencia de crisis espontáneas con un antecedente patológico previo, razón por la que precisa de tratamiento a largo plazo.

CONSIDERACIONES FISIOPATOLÓGICAS.

Las crisis por sí mismas son complejas, la observación de los diversos fenómenos en pacientes con epilepsia que son examinados se realiza con cierta facilidad. Las crisis sólo son el resultado de hiperexcitabilidad o pérdida de la inhibición neuronal (Fig. 1).

EQUILIBRIO ENTRE LA EXCITACIÓN E INHIBICIÓN NEURONAL

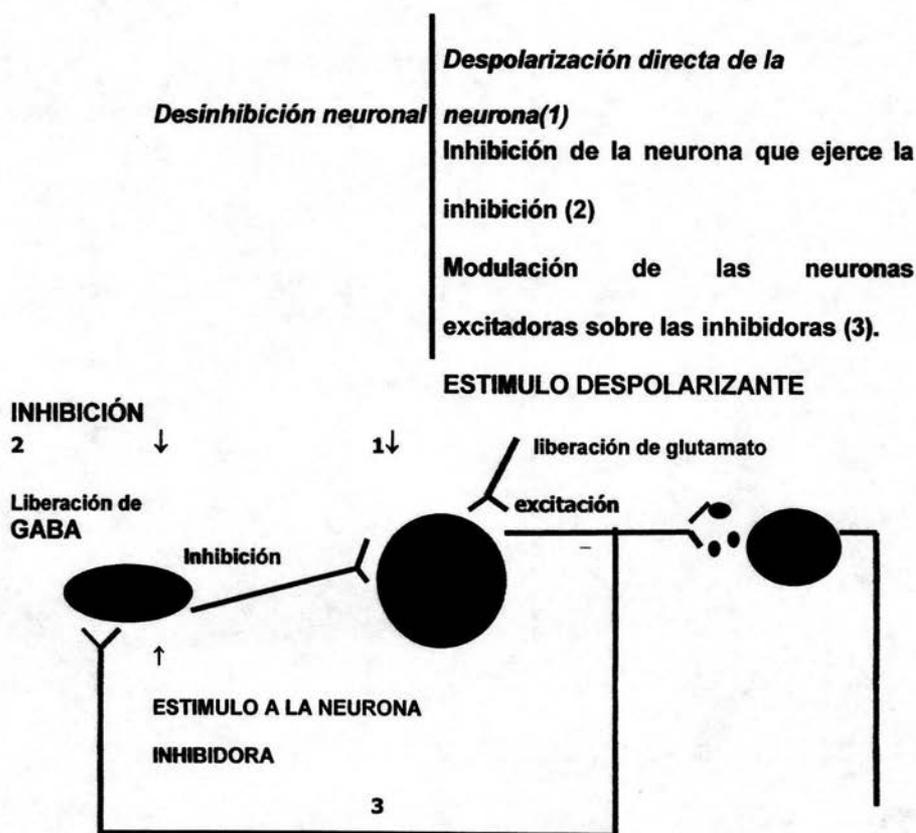


Fig. 1. La actividad neuronal se mantiene en un estado de equilibrio dinámico regulado por procesos inhibitorios y excitadores.

Existen dos elementos fisiopatológicos esenciales, y cada uno representa el efecto final de muchos procesos complejos interaccionando:

1. Es una anomalía de excitabilidad celular, la cual puede ser llamada "desregulación neuronal" originada por mecanismos que afectan la despolarización y polarización de la membrana.
2. Es un "defecto de red" el cual deriva de mecanismos básicos del desarrollo de integración neuronal aberrante, sincronización anormal de poblaciones neuronales y propagación de las descargas epilépticas a lo largo de las redes neuronales interconectadas.

Parte de la diversidad que caracteriza la expresión de las crisis se deriva del hecho que diferentes áreas del cerebro son responsables de diferentes aspectos de los fenómenos epilépticos (Dichter, 1994). Generalmente, estas regiones son espacialmente próximas, aunque son raramente congruentes.

La lesión epileptogénica es el sustrato patológico de la epilepsia; hoy puede usualmente ser identificado por métodos como la resonancia magnética, tomografía computarizada entre otros, aunque el EEG es necesario para demostrar la epileptogénesis de la lesión.

La zona sintomatogénica es la porción del cerebro responsable de producir el primer síntoma ictal clínico, mientras que la zona carente de funcionalidad es el área cortical o áreas de exhibición focal de disfunción no epilépticas. Finalmente la zona epileptogénica es el área total del cerebro que es necesaria para generar crisis y ésta zona puede ser eliminada para poder anular las crisis (Schwartzkroin, P. A., 1993).

SUEÑO Y EPILEPSIA

La importancia del estudio del sueño y su relación con muchas otras funciones del organismo radica en su actividad bioquímica y en la información que nos ofrece. En el humano, el sueño es una parte integral y básica del ciclo "actividad-reposo" presente además en todas las formas de vida. No es un proceso único, sigue un patrón determinado denominado hipnograma. En el humano está constituido por 4 fases de sueño lento o Sueño de Ondas Lentas

(SOL), más una fase de sueño paradójico o sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), procesos naturales y fisiológicamente importantes e indispensables para la reparación de tipo físico y mental.

Su estudio y cuantificación son llevados a cabo mediante técnicas electrofisiológicas, fisiológicas y de índices conductuales (Keenan, 1999).

CARACTERIZACIÓN DE LOS PATRONES DE SUEÑO

El electroencefalograma (EEG), es un testimonio de función o disfunción integrada de materia blanca y gris, y permanece como una medición importante de la integridad del sistema nervioso central (SNC), que ha permitido el establecimiento de diferentes estados electrofisiológicos y conductuales (Lesch y Spire, 1990). Algunos de los ritmos descritos para la vigilia y el sueño son los siguientes:

Alfa

El ritmo alfa está compuesto principalmente por actividad de frecuencia de 8 a 13 Hz, unos 25-50 mV de intensidad. Es un ritmo regular y bien sincronizado, que aparece con marcado predominio en las regiones parieto-occipital y temporal posterior (Prieto-Huesca, 1991).

Beta

Beta se define por una banda de frecuencia mayor de 13 Hz. El aumento de Beta es relativamente reducido a una amplitud de menos de 20-30mV. Se distribuye sistemáticamente sobre las áreas centrales y frontales y casi universalmente se presenta en sujetos normales en algún grado (Lesch y Spire, 1990).

Theta

Theta es definida en la banda de frecuencia de 4 a 7.9 Hz de 50 a 75 mv. Puede presentar un pequeño aumento en áreas centrales, temporales y parietales (Prieto-Huesca, 1991).

Delta

Delta es una actividad de 0.5 a 4Hz. Es la frecuencia dominante de las etapas de sueño profundo y tiene amplitud mayor de 75 mV (Lesch y Spire, 1990).

Complejo K

Es una onda negativa de alto voltaje seguida de un componente positivo. Se ha pensado que son respuestas evocadas por estímulos internos del SNC. También se pueden provocar durante el sueño con estimulación externa (particularmente auditiva), (De Andrés y Corpas, 1990).

Husos de sueño

Son ondas, de apariencia episódica, en forma de huso con frecuencia de 12 a 14 Hz y duración de 0.5 a 1.5 segundos (De Andrés y Corpas, 1990).

Ondas dientes de sierra

Aparecen alrededor del vértex, poseen una frecuencia de 6 Hz y amplitud de 40 a 100 mV (Lesch y Spire, 1990).

Ondas agudas del vértex

Es un potencial agudo, negativo, que se presenta en el área del vértex, ocurre espontáneamente durante el sueño o en respuesta a estímulos sensoriales durante el sueño o la vigilia. Tiene diferentes amplitudes, pero rara vez excede los 250 mV.

FASES DE SUEÑO

Si existe alguna característica que define verdaderamente al sueño, es su falta de uniformidad. A lo largo de la noche, se suceden numerosos cambios cíclicos en la actividad eléctrica cerebral y en otros parámetros fisiológicos y de comportamiento, que han servido como criterio para dividir al proceso del sueño en diversas fases (Buena-Casal y Caballo, 1990).

Cuando un sujeto se dispone a dormir, la actividad eléctrica de su cerebro cambia al pasar del estado de vigilia al de sueño. Dicho cambio no es constante

para toda la noche, sino que a lo largo de ella se modifica varias veces. Los cambios observados son tan claros que han permitido clasificar varias fases de sueño (Prieto-Huesca, 1991).

El registro continuo y simultáneo de variables fisiológicas durante el sueño se denomina polisomnografía. El electroencefalograma (EEG), electromiograma (EMG) y electrooculograma (EOG) son los tres parámetros básicos de registro para determinar las fases de sueño. El electrocardiograma (EKG), el registro de flujo aéreo respiratorio y registro de movimientos de los miembros inferiores son otras variables, a menudo incluidas en el registro polisomnográfico (RPSG).

Tradicionalmente, el ciclo sueño-vigilia en el adulto es determinado por 6 distintos patrones de EEG conocidos como "las fases de vigilia y sueño", las cuales correlacionan bien con alguna de las características fisiológicas, bioquímicas y conductuales observadas durante estos procesos. Esas fases son vigilia (V), sueño MOR y SOL, integrado por las fases 1, 2, 3 y 4 (Lesch y Spire, 1990) (Fig. 2).

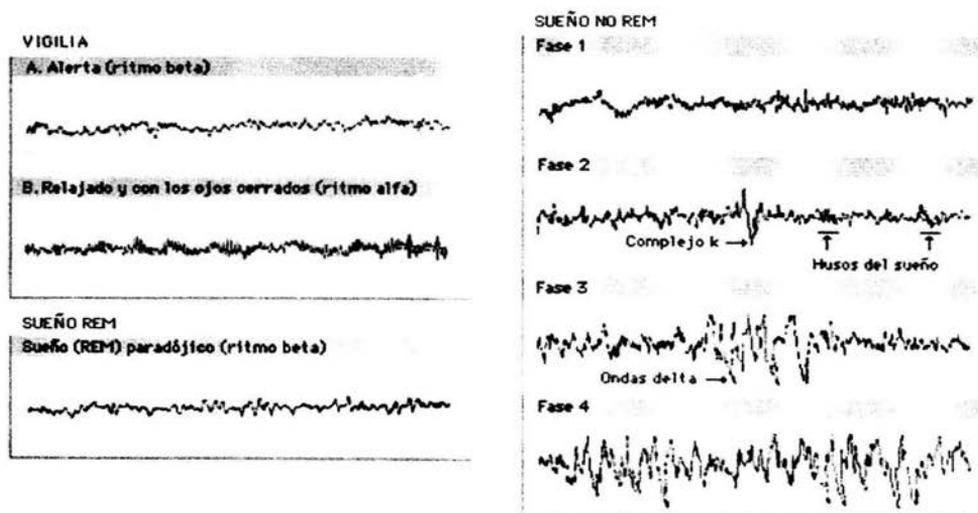


Fig. 2 Características de las ondas durante las fases del ciclo sueño-vigilia

Fase vigilia

El ritmo beta es característico del estado de vigilia activa; se presenta cuando el sujeto realiza alguna operación mental, o se le aplica algún estímulo sensorial, cuando abre los ojos, o al dirigir su atención visual hacia algún objeto.

La vigilia relajada se caracteriza por ritmo alfa de bajo voltaje con frecuencias mezcladas, que se presenta en regiones occipitales, con los ojos cerrados. El tono muscular es alto, con presencia de movimientos oculares (Buela-Casal y Caballo, 1990). El incremento en el tono muscular puede ayudar a identificar el estado de vigilia del sujeto (Lesch y Spire, 1990).

Sueño

Fase 1

A punto de dormir, la frecuencia y regularidad del ritmo alfa disminuyen. Las ondas alfa se presentan alternadas con ondas de frecuencia menor (3-7 HZ). Esta fase corresponde a la transición sueño-vigilia, aún cuando se mantiene cierto contacto con la realidad (Prieto Huesca, 1991). Después de la desaparición de alfa se puede apreciar lentitud en la actividad EEG en regiones fronto-centrales dentro el rango de theta y ocasionalmente delta. También empiezan a presentarse ondas agudas del vértex (Lesch Y Spire 1990). Se pueden presentar movimientos oculares lentos (Rechtschaffen y Kales, 1968). La fase 1 aparece fundamentalmente durante la transición de la vigilia al sueño, o después de movimientos corporales durante el sueño (Lesch y Spire, 1990).

Durante el sueño normal, la fase 1 tiende a ser relativamente corta, dentro de un rango de 1 a 7 minutos (Rechtschaffen y Kales, 1968). La fase 1 de sueño normalmente ocupa de 4-5% del tiempo total de sueño (ASDA, 1990).

Fase 2

Posterior a la fase 1, se acentúa la presencia de ondas theta, ocupando un mayor tiempo del registro; además aparecen husos de sueño. En esta etapa también aparecen, principalmente en el vértex los denominados complejos K.

Así, esta fase se define por la presencia de husos del sueño o complejos K y por la ausencia de suficientes ondas lentas, de gran amplitud que define la presencia de fase 3 o 4 (Rechtschaffen y Kales, 1968). No se presentan

movimientos oculares rápidos (Buela-Casal y Caballo, 1990). Usualmente ocupa de 45-55% del tiempo total de sueño (ASDA, 1990).

Fase 3

Las fases 3 Y 4 en conjunto se han llamado sueño de ondas lentas (SOL). La fase 3 difiere cuantitativamente de la fase 4. La fase 3 se caracteriza principalmente por la actividad de fondo de la fase 2 con un incremento de amplitud en zonas anteriores. Se presenta la actividad delta, constituye del 20-50% de la época en esta fase. El tono muscular permanece normal o ligeramente reducido (Lesch y Spire, 1990; Rechtschaffen y Kales, 1968; Prieto Huesca, 1991; Buela-Casal y Caballo, 1990).

Fase 4

La fase 4 es similar a la fase 3 y ocurre cuando el 50% o más, de la época están compuesto de actividad delta de alto voltaje en todas las regiones de la cabeza, (Lesch y Spire, 1990; Rechtschaffen Y Kales, 1968).

El tono muscular está disminuido en relación con las fases anteriores (Buela-Casal y Caballo, 1990; Prieto Huesca, en Ninomiya 1991). La fase 4 de sueño NMOR usualmente es llamada sueño de ondas lentas (SOL) y representa de 12-15% del tiempo total de sueño (ASDA, 1990). La actividad delta principalmente se presenta en la primera parte de la noche (cuando es mayor la necesidad de dormir), y junto con su amplitud disminuye a lo largo de la noche (Feinberg et al, 1974; 1980).

Fase MOR

El sueño MOR se caracteriza por frecuencias mezcladas de bajo voltaje (Lesch y Spire, 1990; Rechtschaffen y Kales, 1968), principalmente en el rango de actividad theta con ráfagas ocasionales de alfa lentas. Ondas dientes de sierra aparecen alrededor de la zona del vértex (Lesch y Spire, 1990). Hay movimientos oculares rápidos en ráfagas y pérdida del tono muscular, sin embargo comúnmente se aprecian episodios de temblor con duración de 0.25 segundos (Lesch y Spire, 1990; Rechtschaffen y Kales, 1968). El sueño MOR abarca del 20-25% del tiempo total de sueño (ASDA, 1990).

Aunque existen estructuras cerebrales cuya estimulación favorece más a uno u otro estado (sueño o vigilia), no existe propiamente un centro del sueño o la

vigilia, además, si consideramos la actividad de neuronas individuales encontramos que la mayoría se mantienen activas tanto al dormir como al velar y lo que se altera ante todo es su pauta de actividad de descarga (Borbely, 1993).

Durante el sueño se llevan a cabo cambios en el resto del organismo, además de los observados en la actividad eléctrica cerebral. En el caso del SOL se ha denominado a la fase 1 y 2 como sueño ligero; la 3 y 4 como sueño profundo y juntas abarcan del 75 al 80% del periodo total del sueño. De éstas, las fases de sueño profundo proporcionan una función reparadora a nivel físico debido a que, las funciones reguladas por el sistema nervioso periférico como las frecuencias respiratoria y cardiaca se tornan constantes y sincronizadas, es en este momento cuando se lleva a cabo la liberación de ciertas hormonas debido a la función antagónica de los sistemas simpático y parasimpático que se encuentran disminuidas existiendo por ende relajación, con pocos movimientos musculares además de ausencia de movimientos oculares.

En el caso de sueño MOR o también denominado sueño paradójico, se da una activación de los procesos corporales. Al iniciarse un episodio de sueño MOR, la respiración se hace irregular, el pulso y la presión sanguínea exhiben fluctuaciones breves. En el sueño MOR, estudios en el hombre y en animales concuerdan con la existencia de un aumento significativo del flujo sanguíneo cerebral. Se presenta una desincronización en los ritmos cardíaco y respiratorio además de un incremento en la actividad endocrina. Se le atribuye una estimulación endógena sobre el cerebro con el fin de continuar con su desarrollo y programación genética principalmente en el feto y en el humano recién nacido etapas cuyo periodo de duración es el más prolongado. En la edad preescolar y escolar en los niños, al sueño MOR se le asocia con procesos de consolidación de la memoria, aprendizaje, madurez cerebral y de continuidad de la estimulación endógena (Mirmiran y Van Someten, 1993).

FASES DEL SUEÑO EN LA RATA

A fin de relacionar al sueño en mamíferos debemos examinar las corrientes eléctricas (EEG). Al igual que en el hombre, también es posible registrar el EEG de los animales mediante electrodos metálicos colocados sobre la superficie

cerebral o el cráneo. La figura 3 muestra los potenciales eléctricos musculares y cerebrales de la rata despierta y en los estadios de sueño que conocemos en humanos. Nos damos cuenta de que las curvas de la rata son perfectamente comparables con las nuestras. En estado de vigilia, las ondas son pequeñas y muestran un ritmo regular de unas siete oscilaciones por segundo (ritmo theta). La musculatura voluntaria está en tensión, lo cual provoca picos veloces y señalados en el electromiograma (EMG). Una vez conciliado el sueño, esta tensión muscular se pierde. Durante el SOL, las curvas de procedencia cerebral muestran ondas altas, anchas e irregulares en su aparición; en cambio, durante el sueño MOR las oscilaciones son pequeñas, rápidas y regulares. En el sueño MOR se dan, aparte de los veloces movimientos oculares, contracciones esporádicas de las patas y las vibras del hocico. Ambos tipos de sueño han podido observarse prácticamente en todos los mamíferos estudiados hasta ahora. Son excepciones el delfín y el equidna, monotrema en el cual no ha sido encontrado sueño MOR. De modo que los estadios del sueño y sus típicas alteraciones son característicos de la mayoría de los mamíferos.

Volviendo a la rata y examinando su dormir un poco más de cerca. La rata es un animal activo de noche y duerme sobre todo durante el día. Registros de su sueño a lo largo de 24 horas mostraron que la rata duerme unas doce horas de cada 24. Diez de aquéllas corresponden al SOL y dos al MOR. Las horas diurnas, correspondientes a las nocturnas del hombre, no las pasa el animal sólo durmiendo, sino que está más de dos horas despierto. Al igual que en tantos otros animales, el sueño de la rata es polifásico, interrumpido una y otra vez por periodos de vigilia. Cada episodio aislado de sueño de la rata no suele durar arriba de unos minutos y es seguido por un episodio despierto, también corto por lo general. Lo mismo que en el hombre, también en los animales se inicia el episodio de SOL, y el sueño MOR aparece después. Cada ciclo de SOL y MOR dura en la rata sólo diez minutos, o sea que la duración de los estadios es mucho más breve que en el hombre.

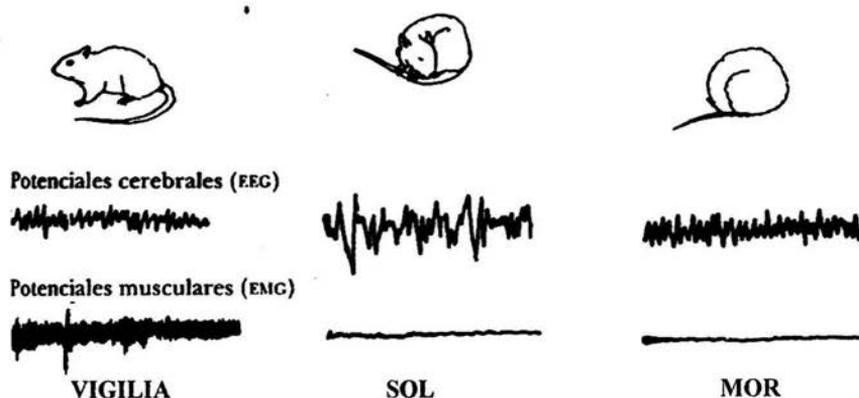


Fig 3. Características conductuales y electrográficas de los tres estados de vigilia en la rata, modificado de Borbely (1981).

SUEÑO Y EPILEPSIA

Los estudios sobre la relación del sueño y la epilepsia, comprenden dos aspectos fundamentales que son: el efecto de las crisis convulsivas focales o generalizadas, sobre la organización del sueño y la incidencia de las crisis según las fases de éste. Los resultados descritos señalan que ambos tipos de crisis presentan un efecto deletéreo sobre las fases del sueño, principalmente sobre el sueño MOR (Calvo, 1992). Aunque el fenómeno epiléptico puede ocasionar modificaciones en el sueño, el sueño también puede ocasionar una fuerte influencia en el desencadenamiento de las crisis y en las anomalías interictales del registro EEG. Estos efectos han sido notorios en epilepsias idiopáticas y generalizadas, en epilepsia parcial con o sin crisis secundarias, incluso en modelos animales (Gian Luigi Gigli y cols, 1997).

La relación entre las anomalías epileptiformes y las fases de sueño ha sido tema de varios estudios. En 1971 Patry y colaboradores, describieron espigas continuas y actividad de vigilia durante la fase SOL a las que denominaron "estatus subclínico epiléptico inducido por el sueño en niños", además establecieron criterios estrictos para el diagnóstico de esta condición (Pierangelo y cols, 1999). Posteriormente, Tassinari introdujo el término "estatus eléctrico durante el sueño" y definió las alteraciones clínicas que acompañan a ese patrón

del EEG como memoria a corto plazo y deterioro en el lenguaje, bajo IQ e hiperkinesia (Beghi, E. y Perucca, 1995).

Terzano y cols (1999), desarrollaron un análisis micro estructural de sueño basado en las alteraciones cíclicas consistente de dos fases: A (la primera mitad del tiempo total del sueño) y B (la segunda mitad del sueño total) de donde reportan que en particular, los EEG de las lesiones focales paroxísticas en las epilepsias temporales y fronto-temporales, muestran cierta activación durante la fase A, en tanto las descargas en las epilepsias idiopáticas generalizadas se activan más intensamente durante la fase B, e inician las espigas interictales. Mediante las técnicas de electroencefalografía (EEG) con monitoreo y video durante 24 horas en pacientes epilépticos, se ha llegado a considerar común el incremento entre la relación de crisis epilépticas y las alteraciones en las fases del sueño. La privación en alguna de las fases puede exacerbar las crisis e inclusive un periodo corto o la pobre calidad del sueño en estos pacientes puede llegar a ser un factor enmascarante, aunque parcialmente de tipo reversible mediante tratamiento farmacológico. Desafortunadamente la relación entre sueño y epilepsia también está afectada por el tratamiento farmacológico ya que los antiepilepticos controlan las crisis, pero modifican la estructura del sueño (Sammaritano y Sherwin, 2000).

❖ I.- Epilepsias del sueño: Las crisis aparecen preferentemente durante el sueño. Este tipo de crisis son encontradas principalmente en epilepsias parcial y generalizada:

- Epilepsias tónico- clónico generalizadas: cerca del 30% con crisis durante el sueño.
- Epilepsia parcial idiopática en niños.
- Síndrome epiléptico en niños, con espigas continuas y descargas de ondas lentas durante el sueño, llamado "Estatus epiléptico del sueño" (Síndrome ESE)

❖ Activación del fenómeno epiléptico durante el sueño: (Degen, 1980, Halász, 1984)

- a).- En las epilepsias idiopáticas generalizadas, la frecuencia de las crisis aumenta durante el Sol y disminuyen durante el sueño MOR.
- b).- En epilepsias generalizadas de sintomatología específica, la activación es durante las dos primeras fases del SOL y disminuye la actividad durante la tercera y cuarta fase.
- c).- En epilepsias generalizadas de sintomatología no específica, tales como el Síndrome de West, el EEG muestra un patrón hipsarrítmico que desaparece durante el sueño MOR. En el Síndrome Lennox-Gastaut, existe un aumento en las espigas y la actividad del SOL durante las primeras dos fases del sueño y una disminución durante la tercera y cuarta fases del SOL. Las crisis tónicas usualmente aparecen durante el SOL.
- d).- En epilepsias parciales, especialmente de forma idiopática, el SOL se predispone a la generalización. En epilepsias asociadas con lesiones, la localización multifocal puede aparecer. El estudio del sueño ha sido muy útil para el diagnóstico de la epilepsia: 46% de las anomalías aparecen en la primera media hora del registro, 57.3% después de las 2 horas, 73% durante las tres primeras horas (Declerck, 1982).

El sueño y la epilepsia están íntimamente relacionados. La actividad epiléptica ictal e interictal interfieren en el sueño de animales y humanos. La privación del SOL facilita el fenómeno paroximal interictal e ictal (Samaritano y Gigli, 1991), la inestabilidad del sueño aumenta la frecuencia de fenómenos epilépticos.

EFFECTO DEL SUEÑO SOBRE LA EPILEPSIA

El sueño causa modificaciones importantes del EEG de las epilepsias, como ya se mencionó antes. Estas modificaciones han sido notorias en epilepsias idiopáticas y generalizadas, en epilepsia parcial con o sin crisis secundarias e incluso en modelos animales (Broughton, 1984), en las cuales, durante el SOL se observa un aumento en la frecuencia de las descargas de espigas en el registro y la aparición de nuevos *focus* de descarga no presentes durante la vigilia. Por otra parte, la vigilia y el sueño MOR tienen un efecto contrario, reduciendo la frecuencia de espigas interictales en el EEG. La frecuencia de descarga y la topografía de la presentación de las espigas durante las etapas de sueño se han

investigado para determinar las áreas epileptogénicas primarias, ya que la estabilidad de la frecuencia de las descargas en los diferentes estados fisiológicos se considera un indicador del sitio epileptogénico primario. Existe un acuerdo general que durante el SOL existe una facilitación de la mayoría de las epilepsias con Crisis Convulsivas Primariamente Generalizadas (CCPG) y aquellas con crisis parciales. Estos hallazgos no tienen mucha consistencia, observan algunas variantes y sus manifestaciones durante el sueño MOR aún son controvertidas. Aunque existe una reducción en la propagación de las descargas desde el sitio de origen. Este fenómeno es de gran interés particularmente en vista de la organización del proceso epiléptico en relación con su tratamiento quirúrgico (Malow y cols. 1999).

Los efectos del sueño sobre las epilepsias se han dividido en cuatro grupos, de acuerdo con el momento de presentación de las crisis durante el ciclo sueño-vigilia (Billard '82).

- Tipo A: pacientes con crisis del despertar, los que las presentan desde unos minutos hasta dos horas después del despertar.
- Tipo B: pacientes con crisis antes del despertar o en la segunda mitad del sueño nocturno.
- Tipo C: pacientes con crisis al iniciar el sueño o en la primera mitad del sueño nocturno.
- Tipo D: pacientes con crisis en la tarde durante las horas de reposo, 8 a 12 horas después del despertar.

Las crisis durante el ciclo sueño-vigilia se presentan principalmente al iniciar el sueño y poco antes del despertar (Daly, 1973).

La relación que existe entre el ritmo del sueño, el estado de vigilia y las epilepsias se encuentra mejor expresada en las epilepsias con CCPG. Las epilepsias que se ven afectadas por los estados del sueño son principalmente:

CRISIS GENERALIZADAS

Crisis Tónicas

Estas crisis consisten en una contracción tónica sostenida no vibratoria. El sueño tiene un efecto activador específico sobre este tipo de crisis. Aunque rara vez se

presenta durante la vigilia, son frecuentes durante el sueño. Son más comunes en la población infantil. Se presentan principalmente en las fases II y III del SOL, y no se han reportado durante el sueño MOR (Gastaut et al, 1963).

Crisis Clónicas

Aparecen principalmente durante episodios febriles y deben diferenciarse de los episodios mioclónicos, que suelen ser precipitados por el despertar. Estas crisis ocurren durante el SOL donde se observan descargas generalizadas bilaterales y sincrónicas de poliespiga, en ocasiones asociadas a mioclonías que evolucionan a crisis clónicas generalizadas. Estas crisis se presentan durante el SOL y desaparecen cuando aparece el sueño MOR (Gastaut, 1968).

Crisis de Ausencia

Estas crisis se caracterizan por un lapso de supresión de las funciones mentales, con pérdida de la conciencia, los reflejos y la memoria: tienen un inicio y fin súbitos, así como una duración variable entre 5 y 15 segundos pero pueden presentar duraciones extremas de un segundo o menos, hasta varios minutos. En la población adolescente las crisis son más frecuentes durante la vigilia que durante el sueño, mientras que en los adultos se facilitan durante el sueño.

En relación con el ciclo sueño-vigilia, es durante el sueño MOR que se presentan dos tipos de crisis de ausencia una con descarga de espiga-onda breves y otra que no presenta descarga de espigas-onda.

Epilepsia mioclónica del adolescente

Este tipo de epilepsia se caracteriza por las descargas espigas-onda que se presentan al inicio del sueño y durante el SOL y desaparecen progresivamente durante el sueño MOR, aunque puede reaparecer al despertar.

CRISIS PARCIALES

Epilepsia parcial con sintomatología elemental

Se presenta en los periodos de sueño y suele pasar inadvertida por los familiares, se detecta sólo mediante el registro poligráfico. Otro grupo presenta crisis aleatorias durante la vigilia y el sueño.

Crisis parciales con sintomatología compleja

Se relaciona con las crisis generalizadas que pueden complicarse con crisis tónico-clónicas durante la vigilia o el sueño

Para fines del tratamiento farmacológico, lo más útil es clasificar a los pacientes de acuerdo con el tipo de crisis que experimentan, ya sea que se trate de cuadros con síndrome generalizado o bien con síndrome focales o parciales como vimos anteriormente en extenso (C.C.T.I.L.A.E., 1989 Anexo), de tal manera que los síndromes parciales están localizados en una región cerebral determinada. Las crisis generalizadas involucran a ambos hemisferios cerebrales tanto las de *petit mal*, como las crisis de ausencia, así como las de gran mal, como el status epiléptico, mioclónicas o tónico-clónicas.

De acuerdo a su clasificación anatómica (C.C.T.I.L.A.E., 1989 Anexo), las epilepsias se clasifican en:

1. Epilepsia del lóbulo frontal
2. Epilepsia de la corteza motora
3. Epilepsia del lóbulo parietal
4. Epilepsia del lóbulo occipital
5. Epilepsia del lóbulo temporal

Por las características que involucran a estructuras de la corteza temporal así como del sistema límbico, que tienen que ver con procesos de la memoria y el aprendizaje y por ende al sueño, el interés se centró en la Epilepsia del lóbulo temporal.

EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL

En la población adulta la más común y devastadora de las epilepsias es la del lóbulo temporal (Nadler, 1981). Remite frecuentemente a una historia de convulsiones febriles o a una historia familiar de convulsiones. Debido a que las dosis terapéuticas, que en otros casos se consideran normales, aquí deben aumentarse gradualmente por lo que se termina por alcanzar grandes concentraciones que traen por consiguiente efectos no deseados (McNamara, 1994). Varias de las estructuras cerebrales que se alteran en la epilepsia del lóbulo temporal pertenecen al sistema límbico.

Este tipo de epilepsia probablemente refleja en parte la epileptogenicidad extrema del sistema límbico en general, pero en forma más particular la del

hipocampo (Collins, 1983). Exámenes histológicos de tejido neuronal obtenidos por cirugía y por autopsias de pacientes con este tipo de epilepsia, revelan con frecuencia esclerosis del hipocampo y del Asta de Amón, la cual se refiere a pérdida neuronal y gliosis en el hilus del giro dentado, CA1 y CA3. Este tipo de lesión se presenta en un 66% de los pacientes con epilepsia y esta esclerosis se caracteriza por una marcada pérdida de neuronas principalmente del hipocampo además de gliosis (Sutula, 1994, McNamara, 1994). Se cree que estos cambios son consecuencia de una excesiva activación de receptores excitatorios a glutamato, lo cual provoca excitotoxicidad. Dentro de las diferentes hipótesis también se habla de la pérdida de neuronas GABAérgicas que conducen a un desequilibrio en la sinapsis y por lo tanto a un aumento desequilibrado de aminoácidos excitatorios (McNamara, 1994).

MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA.

El uso de modelos animales en el estudio de la Epilepsia ha permitido ampliar y profundizar los mecanismos cerebrales, ya sean celulares o sistémicos, válidos a la neurobiología en general y a la epilepsia en particular. Muchos son los trabajos que se realizan con la finalidad de desentrañar el fenómeno epiléptico. En general podemos decir que desde el punto de vista electrofisiológico se destacan dos grandes líneas: por un lado la de los modelos celulares (extra e intracelulares) y por otro, los modelos sistémicos.

Razones éticas determinan que la epileptología experimental se estudie en modelos animales (Fisher, 1989). Algunos investigadores han utilizado tejido nervioso humano, de ablaciones quirúrgicas (Prince y Wong 1981), para obtener señales celulares paroxísticas. Los arduos e históricos trabajos clínicos-quirúrgicos de Penfield (Penfield y Jasper, 1954) en Montreal permitieron establecer caminos para el desarrollo de la epileptología clínica y experimental. Las respuestas experimentales siempre han dependido del modelo empleado (Purpura y cols, 1972), y sus limitaciones están dadas cuando se los quiere homologar con la epilepsia humana. A continuación se describen algunas de las

Cuadro 1. MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA

MODELO AGUDO	MODELO TONICO-CLONICO	MODELO PARCIAL COMPLEJO
PARCIAL		
Típicos convulsivantes	Generalizado	Ácido kaínico
Penicilina	Genéticos	Toxina tetánica
Bicuculina	Crisis audiógenas en ratones Fotosensibles en mandril	Inyección en área temporal
Picrotoxina	Audiógenas	"Kindling"
Estricnina	Electroshock	Rodaja de cerebro
Agentes colinérgicos	Convulsivantes químicos	MODELO HIPOCÁMPICO
Agentes anti-colinérgicos	Pentilentetrazol Bemegrade	Células aisladas
Estim. eléctrica aguda	Picrotoxina Bicuculina	Tejido humano Post-quirúrgico
Rodajas de neocorteza		MODELO AUSENCIA GENERALIZADA
MODELO CRÓNICO PARCIALES		
Implantes metálicos corticales	Penicilina Otros	Estimulación talámica Foco cortical bilateral Penicilina
Hidróxido de aluminio		
Cobalto		Opiáceos intraventriculares
Tungsteno	Desórdenes metabólicos	
Zinc	Hipoxia	Otros
Hierro	Hipoglucemia	
Lesiones por congelación	Oxígeno hiperbárico	MODELO STATUS EPILEPTICUS
Otros	Hipercapnia Uremia Hipertermia Otros	Litio-pilocarpina Cobalto-homocisteína Estimulación recurrente Ácido kaínico

(Robert S. Fisher
(modificado), 1989)

vertientes que canalizan algunos modelos experimentales en animales. En el Cuadro No. 1 se resumen algunos de los modelos experimentales más utilizados. Consideraremos a continuación, algunos de los muchos y renovados trabajos experimentales, especialmente clásicos.

MODELO AGUDO DE EPILEPSIA PARCIAL SIMPLE

Para la realización de este modelo se han empleado distintos fármacos como: Penicilina (Ayala y Vasconsetto, 1970; Gloor y cols, 1977), Bicuculina (Campbell y Holmes, 1984), Picrotoxina (Usunoff y cols, 1969), Estricnina (Knopman, 1975), sustancias colinérgicas (Turski y cols, 1983) o anticolinérgicas (Ayala y Vasconsetto, 1970), así como estímulos eléctricos (Ajmone-Marsan, 1972). Estos fármacos y estímulos se han administrado, directamente a los animales así como en rebanadas de corteza cerebral (Ayala y Vasconsetto, 1970). La aplicación de los fármacos mencionados se realizó por medio de aplicaciones tópicas. La penicilina focal, se aplica sobre corteza, embebiendo algodón con una solución de Penicilina al 1.7-3.4 mM., a los pocos minutos comienzan a registrarse espigas recurrentes (Matsumoto y Ajmone-Marsan, 1964) y semejantes a las obtenidas en el foco humano. La penicilina bloquea al ácido gamma-amino butírico (GABA), inhibiendo los potenciales post-sinápticos (Wong y Prince, 1979).

La descripción de la despolarización paroxística obtenida en el modelo intracelular fue obtenida con penicilina (Ayala y Vasconsetto, 1970). Estudios previos describen los efectos del estímulo eléctrico repetido sobre la corteza cerebral, habiéndose descrito típico modelo de postdescarga (Purpura y cols, 1972). Aplicando trenes de ondas cuadradas de 0.5-10 mseg de duración, de 0.5-5 mA, y a la frecuencia de 18-25 Hz., se obtiene una respuesta de la corteza animal semejante a la humana. La post-descarga ha sido útil para estudiar, en los modelos sistémicos, la propagación de las crisis (Penfield y Jasper, 1954). El empleo de las rebanadas de corteza cerebral (Burton y cols, 1987) de rata, conejo, etc, pueden tener semejanza a los modelos hipocámpicos que se describen más adelante (Andersen y cols, 1979).

Modelos crónicos de crisis parcial simple

Para la obtención de este tipo de crisis experimental se han empleado metales como hierro (Lange y cols, 1980), zinc (Pei y cols, 1983), cobalto (Dow, 1962), tungsteno (Blum, 1960) y gel de hidróxido de aluminio (Kopeloff, 1955), en forma de implantes corticales. El modelo más estudiado y el que arrojó más beneficio fue el último de los mencionados. Se aplica sobre corteza de gato o monos hidróxido de aluminio al 4 %, después de un período latente de uno a dos meses, se producen ataques recurrentes similares a las crisis humanas, caracterizadas por sacudidas contralaterales a la lesión. La anatomía patológica muestra modificaciones importantes del árbol dendrítico y gliosis del foco (Westrum y cols, 1964). Lesiones criogénicas o por congelación (Hanna y Stalmaster, 1973), utilizando nitrógeno líquido también han sido utilizadas en este modelo. Las crisis aparecen después de algunas horas de latencia; durando o persistiendo varios días.

MODELO DE CRISIS PARCIALES COMPLEJAS

Las regiones utilizadas para estudiar este tipo de crisis son las comprendidas en las estructuras límbicas; hipocampo, amígdala y corteza temporal (Gloor y cols, 1977). Se emplearon para la obtención de los fenómenos parciales complejos: ácido kaínico (Nadler, 1981; Cavalheiro y cols, 1982, Sperk 1985), toxina tetánica (Mellanby y cols, 1984), fenómenos kindling (purpura y cols, 1972). El ácido kaínico produce lesiones en las neuronas del hipocampo y la técnica consiste en la aplicación de la droga (0.8-2.0 $\mu\text{g.}$) o por vía intravenosa en dosis de 4mg/kg. Las crisis están caracterizadas por pérdida de la actividad, movimientos masticatorios seguidos de actividad motora compleja, pudiendo desarrollar posteriormente crisis generalizadas tónico-clónicas. La mayor actividad electroconvulsiva se da en la región límbica. La toxina tetánica es otra de las sustancias empleadas en la rata y el gato. Las crisis comprenden sacudidas mioclónicas del tren anterior y/o crisis generalizadas tónico-clónicas. El EEG, muestra un a actividad de punta o punta-onda a una frecuencia de 3-20 ciclos/seg.

El estado convulsivo se desarrolla después de la aplicación de la toxina tetánica, que se inyecta en hipocampo. Cerca de la corteza prepiriforme, que al

ser sometida a microinyección de carbachol, ác. Kainico, bicuculina o N-Metil-D-Aspartato (NMDA), produce ataques clónicos bilaterales (Pineda, 1985), provocando una muy rápida generalización de la descarga, semejante a la secundarización generalizada de las crisis parciales complejas de la clínica humana.

El método Kindling, ampliamente descrito por Goddard (1967) y De la Delgado (1961), es un método que no contamina el modelo como ocurre con otros más invasivos, permitiéndo estudiar la naturaleza del foco y sus consecuencias de una manera más cercana a la realidad biológica, siendo quizás más justa esta apreciación cuando nos referimos al foco secundario. El fenómeno consiste en estimular eléctricamente la región a estudiar, en forma de trenes de estímulos durante 2 segundos, a 60 Hz. y 0.2-1.0 mA. Después de algunos días de estímulo repetidos cada 24 hrs., menores estímulos son capaces de inducir una post-descarga con típicas manifestaciones clínicas convulsivas. Se cree que el fenómeno produce cambios en la excitabilidad de la neurona o disminución del umbral de descarga. En ocasiones las crisis son de aparición espontánea, lo que provoca la ocurrencia gradual y la cronicidad del evento. El kindling se presenta en todos los mamíferos adultos. Racine (1972), clasificó las respuestas conductuales del kindling (tanto en el gato como en la rata), en cinco etapas:

ETAPA I: clonus facial

ETAPA II: clonus facial y movimiento oscilatorio de cabeza (nodding)

ETAPA III: clonus facial, nodding más sacudidas clónicas del tren anterior.

ETAPA IV: erección corporal y sostén del cuerpo con las patas posteriores.

ETAPA V: caída al suelo, crisis generalizada con pérdida del control de la postura.

La descripción realizada corresponde a la rata.

El modelo kindling esta conceptualmente relacionado a la potenciación prolongada (long-term potentiation) y también a fenómenos ocurrentes en regiones de receptores NMDA. Wada (1982), ha estudiado la profilaxis del kindling con fenobarbital, ácido valproico y diazepam, llegando a bloquear los ataques e impidiendo el desarrollo del proceso. Otro aporte está centrado en la constitución del foco secundario en espejo y que quizás responda a un fenómeno kindling, de allí la necesidad terapéutica de bloquear el foco primario e interrumpir el proceso.

A partir del método se relatan complejas modificaciones neuroquímicas tales como: aumento del recambio de dopamina y noradrenalina, disminución de la concentración de GABA, tiroxina hidroxilasa y aumento del GMP-cíclico.

MODELO "CELULAR-BRAIN SLICES"

La necesidad de abordar el foco epiléptico en su expresión celular, sospechándose que en la actividad epiléptica se activa un pool de neuronas que encienden un grupo de potenciales de acción de alta frecuencia, indujo a desarrollar modelos intra y extracelulares (Andersen y cols, 1977). Con ellos se estudiaron con notable precisión la excitabilidad de la membrana y sus distintos componentes concurrentes propios del fenómeno epiléptico. Desde el punto de vista técnico los progresos en el registro tienen mucho que ver. La utilización de electrodos muy finos, metálicos o de vidrio (micro electrodos) de algunos micrones de diámetro de punta, permitió realizar en la neurona (registro extracelular), introducir en esta (registro intracelular) o poder "aspirar" un trozo de membrana neuronal, dentro de un micro electrodo, técnica del clampeo del voltaje y poder estudiar en forma controlada los potenciales de la membrana. El registro Electroencefalográfico fue complementado por una cadena electrónica de preamplificadores-osciloscopios-grabadores y conversores que a través de programas computarizados permiten registrar, grabar y cuantificar matemáticamente pequeñas señales extra e intracelulares del fenómeno epiléptico. Los trabajos se han realizado en animales con libre movimiento o en rebanadas de tejido nervioso de unos 250-350 micrones de espesor. En el primer caso el registro puede ser simultáneo, con macro y micro electrodos, lo que permite obtener registros simultáneos de EEG y de potenciales extracelulares. El tejido más empleado pertenece al hipocampo debido a su estructura y fácil visualización con bajo aumento permite guiar e introducir el micro electrodo en la región celular elegida. El tipo de señal obtenida en el osciloscopio permitirá inferir que se trata del interior de la neurona o registrando actividad de campo extracelular. La aparente estructura elemental del hipocampo y las características funcionales de sus grupos celulares, han hecho del mismo la región más estudiada en este tipo de modelo experimental. El registro extracelular permitió

distinguir, según la frecuencia de aparición de los potenciales de acción, dos tipos de neuronas epilépticas (Wyler y Ward, 1980): el tipo 1, con intervalo interespiga menor de 5 mseg. Y el tipo 2 donde solo un 10 % aproximadamente descarga a esa frecuencia. Esa cuantificación de la actividad neuronal epiléptica se le denomina índice de descarga. Se ha demostrado que las neuronas de tipo 1, constituyen el foco propiamente dicho, mientras que el tipo 2 conforman la periferia del mismo. El primero funciona como un marcapaso del generador; el segundo permite, con su masa reclutada, que el evento se propague. El registro intracelular de células piramidales del foco, muestra un gran y prolongado potencial de membrana, sincrónico con las espigas interictales de la superficie, denominada despolarización paroxística (DPS) (Prince y Wong, 1981).

MODELOS DE CRISIS GENERALIZADAS TÓNICO-CLÓNICAS.

Diversos métodos experimentales han permitido el desarrollo de modelos de epilepsia generalizada de tipo clónico-clónica. Fisher (1989) en su revisión, aunque no encuentra un buen modelo animal para las formas primarias generalizadas de ataques recurrentes tónico-clónicos de tipo Gran Mal, propone la epilepsia fotosensible del mandril o del Papio-papio y las crisis audiogénicas del ratón. Existen otros modelos hereditarios del ratón caracterizados por crisis tónicas generalizadas o ataques de ausencia (Trotter mice) y una epilepsia genética de la rata denominada "Genetically Epilepsy-prone". La epilepsia fotosensible (Meldrum y Horton, 1971) del Papio-papio se obtiene por estimulación lumínica intermitente a la frecuencia de (Granilo y cols, 2001) flashes por segundo (Killam, 1967). Se caracteriza por crisis tónico-clónicas o espasmos tónicos de cara y cuerpo que persisten aún después de la estimulación. Las descargas muestran predominio topográfico frontal de punta o punta-onda bilaterales a 3 Hz. La actividad profunda puede ser obtenida en formación reticulada y núcleo centromediano del tálamo. La progresión del ataque produce brotes de poliespigas y en la etapa crónica ondas lentas. Al cesar las crisis existe depresión del voltaje. Las crisis audiogénicas, Purpura (1972) del ratón son provocadas por estímulos sonoros caracterizándose por un período pretónico, otro tónico y finalmente un período post-tónico. La raza de ratones pertenece a un fenotipo que ha sido

industrializado para fines experimentales y son denominados SJL/J-DBA/2J61 de los laboratorios Jackson, Bar Harvor. La epilepsia genética "GEPR" (Genetically epilepsyprone rats) constituye un modelo genético. Las crisis son desencadenadas por el sonido, la hipertermia, estímulos químicos y/o eléctricos. Existen dos colonias epilépticas: la GEPR-9 y la GEPR-3; al estímulo sonoro ambas cepas corren descontroladamente para luego presentar sacudidas clónicas. Las ratas GEPR-9 sufren además crisis tónicas extensoras. La etapa más propicia para producir este tipo de epilepsia refleja está comprendida entre la segunda y cuarta semana del nacimiento. Las crisis pudieron ser bloqueadas por la inyección de aminoácidos antagonistas en el colículo inferior.

Efecto parecido se obtuvo cuando la inyección fue aplicada en la sustancia nigra y la formación reticulada del tronco cerebral. En estos animales se encontró déficit de noradrenalina en tronco cerebral, cerebelo y telencéfalo, como disminución de serotonina y aumento del contenido colinérgico en tálamo y estriado. Si bien la inyección de NMDA, en el colículo inferior desencadena una crisis, no hay concreta evidencia entre aminoácidos excitatorios y crisis audiogénica. El hallazgo de un aumento significativo de la glutámico-ácido decarboxilasa en neuronas del colículo inferior, sugiere que la desinhibición juega un rol importante en la susceptibilidad de las crisis.

Existe una especie de rata que espontáneamente padece crisis tónicas y ausencias. Son ratas producto del cruzamiento entre ratas homocigotas "Tremor" y homocigotas "Zitter". Se llaman ratas "SER" (ratas epilépticas espontáneas) y sus EEGs, muestran descargas de complejos de punta-onda a 5-7/s., en corteza e hipocampo (Serikawa y Yamada, 1986). Otros modelos son: el provocado por electroshock y por la aplicación sistémica de convulsivantes. El primero consiste en aplicar un estímulo eléctrico de intensidad suficiente como para desencadenar una crisis convulsiva.

El estímulo se aplica sobre el cerebro. El estímulo que provoca la crisis generalizada se denomina estímulo umbral; mas allá de aquel es supraumbral o máximo. Con estímulo de trenes de onda cuadrada de 0.2 msec., de duración y a una frecuencia de 60 a 100 pps., el animal, después de un breve período de inmovilidad presenta la fase tónica en flexión de los miembros. Luego le sigue la

fase clónica, caracterizada por extensión de las extremidades acompañada de movimientos de gran amplitud. Se cuantifican los tiempos de ambas fases como así también los tiempos de recuperación (TR) del animal después de la estimulación. Muchos compuestos químicos pueden producir crisis generalizadas si se aplican e forma sistémica. La lista es amplia, pero mencionamos: penicilina, estrićnina, homocisteína, NMDA (Czuczwar y cols, 1985) bemegríde (Rodin y cols, 1958), pentilenećtetrazol (PTZ) (Papy y Naquet, 1971). En el animal produce sacudidas mioclóńicas y crisis generalizadas tónico-clónicas. La inyección intravenosa de una solución de PTZ al 1% y con 50mg/Kg, produce ataques clónicos, mientras que con 90 mg/kg., crisis tónico-clónicas. Parecería que estructuras como los cuerpos mamilares, los tractos mamilotalámicos y anterior talámico participan en las crisis generadas por el PTZ. El gamma-vinil GABA bloquea los ataques de PTZ., dentro de la formación reticular y el hipotálamo. Para algunos autores el PTZ bloquea la inhibición mediada por el GABA. El PTZ fue adoptado también como test para la evaluación de algunas drogas anticonvulsivas al igual que el electroshock. Por ejemplo: la fenitoína y la carbamacepina no tienen efecto sobre las crisis desencadenadas por la estimulación eléctrica. La penicilina suministrada por vía parenteral (Taylor-Curval y Gloor, 1984) puede producir crisis generalizadas en el gato y en la rata, aunque en el primero, es muy útil para estudiar variados tipos de crisis después de la administración de 300.000 unidades/kg., vía intramuscular. Otros convulsivantes como mencionamos mas arriba son empleados, por ej.: la estrićnina que produce crisis generalizadas (Knopman, 1975). Su acción interactúa con los receptores GABA-benzodiacepíńicos; aunque la acción más significativa sería contra la glicina que es un importante inhibidor. El bemegríde (Rodin, 1958) ha sido empleado para producir ataques generalizados o activar focos. Fenómenos similares se obtienen con la picrotoxina (Usunoff y cols, 1969) y la bicuculina (Campbell y Holmes, 1984). No hay acuerdo sobre el modo de acción de estos fármacos que son antagonistas del GABA y bloquean los potenciales postsinápticos inhibitorios. Se sabe que la picrotoxina interactúa con el ionóforo de cloro del receptor GABA. La homocisteína (Hammond y cols, 1980) ha sido usada, en roedores para producir un modelo de crisis generalizadas. Cuando se la administra a razón de 1.000

mg/Kg., vía intraperitoneal aparecen crisis generalizadas clónicas o tónico-clónicas; si el estado persiste el animal puede entrar en status *epilepticus* y morir. Se han descrito receptores glutamatérgicos que se clasificaron según su sensibilidad al NMDA., al quisqualato y al kainato. Los últimos dos están comprometidos en la transmisión sináptica y los receptores NMDA en el fenómeno de potenciación de los procesos sinápticos (long term potentiation) que influyen en las crisis. La administración de NMDA intraperitoneal e intravenosa en el ratón produce crisis clónicas, mientras que la aplicación del N-metil aspartato conduce a la muerte en status epiléptico, en la totalidad de los animales tratados (Czuczwar y cols, 1985).

MODELOS DE AUSENCIAS GENERALIZADAS

Para este tipo de crisis fueron empleadas: la aplicación de penicilina sistémica, la creación de focos corticales bilaterales (Purpura y cols, 1972), la estimulación talámica (Morison y Damsey1970), la inyección intraventricular de opiáceos o intraperitoneal de THIP-Tetra-hidroxiisoxazolo-4, 5 c-piridino 3-ol-20. La aplicación de 300.00 un./kg., de penicilina G., en el gato produce variedades de crisis; pérdida de la actividad, mioclonus, temblor facio-oral con progresión a generalización tónico-clónicas. El EEG., muestra descargas de punta-onda similar a las observadas en la ausencia clínica. A partir de este modelo electrográfico provocado por la penicilina se han desarrollado diversas líneas de estudio que abordan el origen celular o estructural de la punta-onda. El pequeño mal, tuvo como hipótesis de su origen, estructuras del tronco cerebral y la formación retículo-talámica (Jasper, 1964). En los animales esa teoría no fue reconocida, aún más, la puntaonda fue registrada en corteza antes que en el tálamo y la formación reticulada, por lo que se ha sugerido que el generador cortical es mantenido por un circuito recurrente tálamo-cortical. Altas dosis de sulfato de morfina vía parenteral, inducen crisis clónicas en roedores. La inyección intraperitoneal de THPI (5-10mg/Kg), en la rata producen ausencias de varias horas de duración y con descargas de punta-onda generalizada. Probablemente la THPI bloquea los efectos endógenos del GABA (Fariello, 1987). La estimulación talámica constituyó un modelo neurofisiológico epiléptico, definiendo el concepto

de formación retículo-talámica (Jasper 1964), ya que la estimulación de la línea media y el tálamo intralaminar produce ausencia y punta-onda en el EEG. Actualmente el papel que desempeña el talámico y la corteza en la generación de la ausencia es controvertido, de tal modo que se relatan observaciones de estimulación talámica con efecto anticonvulsivo.

MODELO ANIMAL DE STATUS EPILEPTIUS.

Varios modelos han sido propuestos como capaces de producir experimentalmente Status epilepticus. El efecto del litio-pilocarpina (Butherbaugh, 1986) que produce en la rata, ataques generalizados clónicos o tónico-clónicos de varias horas de duración. En el EEG se observan características similares al status epiléptico humano. La dosis empleada en este modelo es de aproximadamente de 3mEq./Kg., intraperitoneal de litio; veinte horas mas tarde se agrega pilocarpina, por la misma vía, a razón de 25-30mg/Kg. La pilocarpina puede producir status motor. La asociación de cobalto focal con homocisteína sistémica puede producir status epiléptico tipo tónico-clónico, También nosotros obtuvimos status generalizado con el empleo del AK a altas dosis subcutáneas en la rata adulta o status eléctrico hipocampal con penicilina local o en núcleos profundos cerebelosos (Sperk, 1994; Granillo, 2001).

En este sentido se considera al ácido kaínico (AK) como un potente estimulante del SNC y se postula que ejerce un mecanismo de acción como un agonista del glutamato. Se obtiene de una semilla dulce conocida como *Digenea simplex*.

EL ÁCIDO KAÍNICO COMO MODELO CONVULSIONANTE

El ácido Kaínico (AK) es un ácido dicarboxílico, uno de los fármacos efectivos para inducir crisis epilépticas. La característica sobresaliente del AK para la investigación de la epilepsia es su potencia para inducir un síndrome caracterizado por un *status epiléptico* límbico agudo y con subsecuente daño neuronal cerebral, similar al que se presenta en la epilepsia del lóbulo temporal en humanos (Nadler, 1981, Pollard, 1993).

La semejanza estructural del AK con el glutamato, el mayor neurotransmisor excitador en el cerebro, le confiere un efecto neuroexcitador y

neurotóxico en el SNC de los mamíferos (Sperk y cols, 1985 y 1994, Löscher y Schmidt, 1988, Shinozaki y Konishi, 1979). Se ha demostrado que la aplicación de AK a ratas ya sea vía intraperitoneal (i.p.) o subcutánea, a una dosis de 8-12 mg/kg; o bien en sitios específicos del cerebro a dosis de 0.4-1.5 g/ L de solución salina, es igualmente efectiva para inducir la aparición de descargas epilépticas continuas, espontáneas y recurrentes, asociadas con un patrón característico de daño cerebral semejante al descrito en humanos con epilepsia del lóbulo temporal (Ben-Ari y col., 1980; Sperk, 1994).

En cuanto al mecanismo por el cual actúa el AK para reproducir los efectos de descargas epilépticas continuas y por lo tanto el daño cerebral, se propone que después de la inyección sistémica o local (Sperk, 1985) induce severas convulsiones provocando lesiones en axones y dendritas del hipocampo, corteza piriforme, amígdala y cerebelo entre otras. El AK llega a áreas vulnerables del cerebro e induce lesiones directas a las neuronas. Además puede ejercer una fuerte acción excitadora sobre ciertas vías neuronales (como por ejemplo sobre las fibras musgosas de las células granulares del giro dentado del hipocampo, las cuales transmiten su excitación hacia el circuito trisináptico del hipocampo el cual involucra a las neuronas piramidales de CA1 y CA3 causando hiperexcitabilidad), en su momento se producen crisis y finalmente daño a las neuronas (Sperk, 1994; Morin y col., 1999). Estos datos son muy ilustrativos de la potencia convulsionante del AK. Es importante señalar que la sustancia puede inducir un severo *estatus epiléptico*.

ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA

La forma más conveniente de administrar el AK es por vía sistémica, porque produce cambios conductuales y neuropatológicos similares a los que se obtienen cuando se administra la neurotoxina en cualquier área cerebral (Sperk, 1994). Por esta vía de administración se evita el daño mecánico directo y la alta concentración local del AK que pudiera perjudicar a las neuronas por un efecto independiente de las convulsiones (Nadler, 1981)

CAMBIOS CONDUCTUALES

La administración de una sola dosis sistémica de AK en la rata produce cambios conductuales que se manifiestan más consistentemente como sacudidas de perro mojado seguidas por movimientos de roer, masticatorios, salivación excesiva, olfateo, movimientos de cabeza, parado en patas traseras, pérdida de la postura recta y episodios de hiperactividad (Nadier, 1981) . En la cumbre de las crisis ocurre la aparición de convulsiones tónico clónicas. Eventualmente, los ataques límbicos pueden culminar en status epiléptico, posiblemente debidos a la apertura de la barrera hematoencefálica y la penetración del AK por la crisis provocada. La duración de estas manifestaciones en conjunto son de dos a tres horas (Sperk, 1994).

CAMBIOS ELECTROENCEFALOGRÁFICOS

El registro electroencefalográfico (EEG) en ratas administradas con ácido kaínico muestran que los cambios conductuales corresponden a las manifestaciones de la actividad epiléptica, que se inicia en las estructuras límbicas (Collins, 1983), principalmente en el hipocampo, la amígdala y la corteza piriforme. Inicialmente, se observan episodios recurrentes con espigas rítmicas, separadas por períodos interictales con lapsos de uno o varios minutos de duración (Nadier, 1981). Las convulsiones electroencefalográficas se prolongan rápidamente a través del circuito límbico. La actividad EEG de las ratas tratadas con AK se correlaciona estrechamente con los cambios conductuales observados en ellas. Estos cambios en la actividad EEG corresponden al desarrollo de las sacudidas de perro mojado (Sperk, 1994). La actividad convulsiva se propaga eventualmente a la neocorteza, situación que probablemente produce las manifestaciones motoras (Nadier, 1981)

Cambios neuropatológicos

Las neuronas piramidales del hipocampo son las más sensibles a la acción neurotóxica del AK, siendo la región CA3 la más vulnerable (Collins, 1983) seguida por la región CA4. Por el contrario, las regiones CA1 y CA2 y los granulos dentados son particularmente resistentes a esta toxina (Ben-Ari, 1980)

Histológicamente se ha descrito un engrosamiento glial y dendrítico de todo el cerebro anterior y un amplio daño neuronal. Las áreas más afectadas son el bulbo olfatorio, la corteza, el complejo amigdalario, el hipocampo y sus partes relacionadas con el tálamo y la neocorteza (Sperk, 1985) Se ha reportado que las ratas tratadas con AK experimentan denervación de células inhibitorias acompañada por arborización colateral de fibras musgosas conduciendo a la formación de sinapsis adicionales sobre otras células granulares dentadas, lo que constituye un nuevo circuito excitatorio recurrente (Dudek, 1994)

Los cambios histopatológicos producidos por el AK involucran también pérdida masiva de células nerviosas, proliferación glial y necrosis de los tejidos límbicos (Sioviter, 1994). Tales cambios se reportan como permanentes. Estos eventos han sido clasificados como "daño cerebral relacionado con la crisis", y más correlacionados con la severidad de los cambios conductuales que con la dosis del AK administrado. Estos cambios no son inducidos por acción directa de la toxina sino por mecanismos secundarios que contribuyen a la patogénesis del daño cerebral epiléptico irreversible (Sperk, 1985)

Adicionalmente, se ha encontrado daño cerebral similar después de la inyección local de AK, lo que ha sido denominado "lesión distante" (Zaczek et al, 1978).

CAMBIOS NEUROQUÍMICOS

Estudios metabólicos han mostrado un aumento relevante en la utilización de glucosa de tres a seis veces en las estructuras límbicas después de la administración del AK (Wasterlain, 1993) Este aumento fue más notorio en hipocampo, amígdala, corteza piriforme, corteza entorrinal y subcortical (Collins, 1983) El sector CA3 del hipocampo es el área que responde más severamente al AK por acumulación de 2-desoxiglucosa. Un aumento progresivo en la dosis de AK produce una marcada acumulación de 2-desoxiglucosa (Sperk, 1985) Estudios del modelo animal también revelan cambios marcados en los parámetros neuroquímicos, los cuales ocurren en dos fases; la fase temprana se caracteriza por un aumento reversible en las monoaminas noradrenalina (NA), dopamina (DA) y serotonina (5-HT) durante las convulsiones que ocurren de las 2 a las 24 horas

después de la inyección de AK. La fase tardía irreversible que se presenta entre los 3 y los 30 días después de la administración presenta una disminución de la actividad de la colina acetiltransferasa (ChAT) (Sperk, 1985; Sperk, 1994). En el cuadro No.2 se presenta un resumen de cambios a nivel neuroquímico, de diferentes neurotransmisores y péptidos que se ven alterados por la administración de AK.

TIEMPO DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE AK

	(3—24 hr)	(10—30 días)	Referencias
(NA, 5-HT)	↓	—	12, 14, 18
(5-HIAA, HVA)	↑	—	12, 14, 18
niveles de Glutamato	↓		4
GLU-Recaptura	↓		12
Niveles peptídicos (somatostatina neuropeptido Y)	↓	—/↑	19
Glutamato decarboxilasa	↓ (hilus)	—/↑	12, 18
Colina acetiltransferasa	↓	↑	18
Unión α-Bungarotoxina	↓		11
Receptores KA	↓		3, 16
Receptor α Benzodiazepina (central)	↓ (hipp.)	—	13
Receptor α Benzodiazepina (periférica)		↑ (SG)	20
Receptor α Benzodiazepina (periférica)		↑	1, 13
Prostaglandinas	↑	—	2
Leukotrienos	↑	—	17
2-desoxyglucose	↑ (SG, CAI—CA3)	—	10
c-fos	↑ (SG)	—	7, 15

Cuadro 2. CAMBIOS NEUROQUÍMICOS INDUCIDOS POR EL AK EN LA RATA

1. Altar et al., 1990; 2. Baran et al., 1987a; 3. Berger et al. 1986; 4. Chapman et al., 1984; 7. Le Gal La Salle, 1988; 10. Lothman y Collins, 1981; 11. McCaughran et al., 1980; 12. Heggli et al., 1981; 13. Kish et al, 1983; 14. Kleinrok y Turski, 1980; 15. Popovici et al, 1990; 16. Represa et al., 1987; 17. Simet y Tippler, 1990; 18. Sperk et al., 1985; 19. Sperk et al., 1994; 20. Tanaka et al., 1992.

Abreviaciones: ↓ decremento; ↑ incremento, — sin cambio; SG—stratum granulosum; hipp.—hippocampus, tejido total.

PAPEL DEL GLUTAMATO COMO NEUROTRANSMISOR EXCITADOR

En la actualidad, está bien establecido que el glutamato es el agente neurotransmisor usado en la mayoría de las sinapsis excitadoras del Sistema Nervioso Central de los mamíferos. Además de la función del glutamato como mediador de la transmisión sináptica, este aminoácido participa durante la formación del sistema nervioso en procesos de crecimiento y maduración neuronal, en la formación y eliminación de sinapsis, en determinadas áreas y de forma dependiente de actividad, en la formación de patrones precisos de conexión sináptica. Igualmente desencadena cambios duraderos en la eficacia sináptica, fenómenos conocidos como LTP (potenciación de larga duración, "long term potentiation") y LTD (depresión de larga duración, "long-term depression"), que se consideran el correlato celular de los procesos de aprendizaje y formación de la memoria.

Además, alteraciones de la neurotransmisión glutamatérgica están implicadas en el daño neuronal observado después de episodios de isquemia y de hipoglucemia, así como en la etiología de una serie de estados neuro-patológicos que incluyen la epilepsia y las enfermedades de Alzheimer, Parkinson, Corea de Huntington y Esclerosis Lateral Amiotrófica.

El glutamato realiza sus funciones mediante la activación de varios receptores. Los receptores que el glutamato activa se han dividido en dos familias: receptores metabotrópicos y receptores ionotrópicos. Los receptores metabotrópicos (mGluRs) están acoplados a proteínas G (proteínas que unen GTP) y regulan la producción de mensajeros intracelulares (Pin y Duvoisin, 1995). Esta superfamilia está formada por 8 genes diferentes (mGluR1-8), cada uno de los cuales da lugar a distintos mRNAs por mecanismos de empalme (splicing) alternativo. Según el nivel de conservación de su secuencia aminoacídica estos receptores se han subdividido en tres grupos (tipos I, II y III) (Nakanishi, 1992), con dos posibles mecanismos de transducción (adenilato-ciclasa y fosfolipasa C). Estos tres grupos presentan también propiedades farmacológicas propias.

Por el contrario, los receptores ionotrópicos de glutamato (iGluRs) forman un canal catiónico con diferente selectividad iónica según el tipo de receptor,

siendo permeables a sodio (Na^+), potasio (K^+) y, en ocasiones, a calcio (Ca^{2+}) (Nakanishi, 1992; Hollmann y Heinemann, 1994).

RECEPTORES IONOTRÓPICOS DE GLUTAMATO.

Se estima que en el SNC de los mamíferos, el glutamato es el neurotransmisor empleado en el 90 % de las sinapsis excitadoras rápidas, donde actúa sobre receptores ionotrópicos (iGluR). En función del agonista que produce la activación de éstos con mayor afinidad o selectividad, los receptores ionotrópicos de glutamato se han clasificado en tres tipos: receptores de NMDA (ácido N-metil-D-aspartico), receptores de AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico) y receptores de kainato. Desde el punto de vista molecular, los receptores ionotrópicos de glutamato son proteínas integrales de membrana formadas, probablemente, por cuatro subunidades que forman un tetrámero (Rosenmund *et al.*, 1998). Estas subunidades son cadenas polipeptídicas de aproximadamente 900 aminoácidos (≈ 100 KDa), las cuales están formadas por tres dominios transmembranales (M1, M3 y M4) y un dominio intramembranal (M2); con el extremo carboxiterminal intracelular y el aminoterminal situado en el lado extracelular. Se han identificado 28 subunidades distintas, codificadas por, al menos, 17 genes diferentes. Tal variedad se genera porque los RNAs pueden ser modificados mediante mecanismos de empalme alternativo. Además, se conocen variantes generadas por edición del RNA, lo que incrementa el número de isoformas.

1.-RECEPTORES DE NMDA.

De los tres tipos de receptores ionotrópicos de glutamato, el mejor conocido es el receptor de NMDA, debido sobre todo, a la rápida disponibilidad de ligandos selectivos, como el agonista NMDA (N-metil-D-aspartato) y los antagonistas D-AP5, MK801 o ketamina. Los receptores de NMDA son canales catiónicos que permiten el paso de Ca^{2+} . Funcionalmente, se caracterizan por poseer una alta permeabilidad a Ca^{2+} (Ascher y Nowak, 1988), presentar dependencia de voltaje debida al bloqueo del canal por concentraciones fisiológicas de magnesio (Mg^{2+}) (Nowak *et al.*, 1984; Mayer y Westbrook, 1987), un tiempo de apertura largo

(Nowak *et al.*, 1984) y una cinética de activación y de desactivación relativamente lenta (Lester *et al.*, 1990).

Además de los sitios de unión para el agonista, el receptor de NMDA presenta diversos lugares de regulación alostérica, que son diana para compuestos tanto endógenos como exógenos. Estos sitios de unión incluyen: un sitio de alta afinidad para glicina (Johnson y Ascher, 1987; Klecner y Dingledine, 1998; Lerma *et al.*, 1990); un sitio localizado en la luz del canal donde se unen el Mg^{2+} y moléculas como las fenciclidinas (PCP), el MK801, TCP o ketamina (Macdonald *et al.*, 1991; Lerma *et al.*, 1991); además de un sitio adicional en el que actúa Zn^{2+} inhibiendo las respuestas inducidas por el agonista de forma independiente de voltaje (Peters *et al.*, 1987; Westbrook y Mayer, 1987).

Finalmente, es conocido que las poliaminas, espermina y espermidina potencian de forma alostérica el receptor de NMDA (Lerma, 1992). Igualmente, se ha descrito que los receptores de NMDA son sensibles a altas concentraciones extracelulares de H^+ (p.e. son sensibles al pH) (Traynelis y Cull-Candi, 1990) y son susceptibles a los estados de oxidación-reducción (Aizenman *et al.*, 1989) y fosforilación.

A nivel estructural estos receptores están formados por, al menos, dos tipos de subunidades: NR1 (Moriyoshi *et al.*, 1991) y NR2 (Monyer *et al.*, 1992; Meguro *et al.*, 1992). Esta última consta de cuatro isoformas, NR2A, NR2B, NR2C y NR2D. La subunidad NR1 presenta 8 variantes generadas por empalme alternativo (Sugihara *et al.*, 1992; Nakanishi *et al.*, 1992), que tienen diferentes propiedades farmacológicas.

Expresando en sistemas heterólogos la subunidad NR1 con cualquiera de las cuatro subunidades NR2, se obtienen receptores de NMDA con características funcionales similares a los nativos. La subunidad NR1 parece ser el constituyente común de los receptores de NMDA, puesto que ninguna de las cuatro subunidades NR2 es capaz de generar receptores funcionales por sí misma. Dependiendo de la subunidad NR2 que se ensamble, los receptores heteroméricos NR1-NR2 tienen características propias.

La subunidad NR1 se encuentra expresada en prácticamente todas las neuronas (Moriyoshi *et al.*, 1991) mientras que las distintas subunidades NR2

muestran patrones de expresión espacio-temporales característicos en el cerebro y en la médula espinal, sufriendo alteraciones durante el desarrollo (Watanabe *et al.*, 1992; Monyer *et al.*, 1994).

Los receptores de NMDA están involucrados en procesos fisiológicos complejos del SNC. Además de participar en la transmisión normal de la información, la activación de los receptores de NMDA se requiere para la generación de algunas formas de LTP (Nicoll *et al.*, 1988). Igualmente, la alta permeabilidad a calcio de los receptores de NMDA hace que estos jueguen un importante papel en procesos de muerte celular por excitotoxicidad.

2. -RECEPTORES DE AMPA.

La familia de los receptores de AMPA está formada por cuatro subunidades que presentan una homología entre ellas del 68 al 75 %. Se denominan GluR1-4 o GluRA-D, según el criterio seguido por el grupo que las clonó. Cada una de las cuatro subunidades presenta dos variantes generadas por procesamiento alternativo de los mRNAs, denominadas "flip" o "flop". Un determinante molecular importante para las propiedades de canal de los receptores de AMPA es el aminoácido situado en la posición 586 (sitio Q/R). En tres de las cuatro subunidades del receptor de AMPA (GluR1, 3 y 4) esta posición está ocupada por una glutamina (Q). Los canales formados por cualquiera de estas subunidades presentan una marcada rectificación entrante: dejan pasar más corriente en sentido entrante (potenciales de membrana negativos) que en sentido saliente (potenciales de membrana positivos) y son significativamente permeables a calcio (Hollman *et al.*, 1991; Verdoorn *et al.*, 1991; Burnashev *et al.*, 1992). Por el contrario, la subunidad GluR2 presenta una arginina (R) en esta posición. Este cambio hace que estos receptores presenten rectificación saliente (dejan pasar más corriente a potenciales de membrana positivos que negativos) y no permeen calcio. La subunidad GluR2 es fenotípicamente dominante, determinando el comportamiento del canal.

De forma contraria a los receptores de NMDA, que poseen varios sitios de modulación, los receptores de AMPA carecen, aparentemente, de esta compleja farmacología. En 1990 se describió que la sustancia Aniracetam potenciaba las respuestas de quisqualato a través de los receptores de AMPA (Ito *et al.*, 1990).

Investigaciones posteriores demostraron que una familia de compuestos, las benzotiodiacidas, eran capaces de reducir la desensibilización de los receptores de AMPA. En este sentido, los diazóxidos, clínicamente usados como antidepresivos, son un orden de magnitud más potente que el aniracetan. El compuesto más efectivo de esta familia es la ciclitiacida que reduce notablemente la desensibilización rápida de los receptores de AMPA, aumentando las corrientes postsinápticas (Yamada *et al.*, 1993; Patneau *et al.*, 1993; Trussell *et al.*, 1993).

Los receptores de AMPA se distribuyen por todo el cerebro, existiendo cambios de expresión según la etapa del desarrollo y el tipo de subunidad. De forma general, estos receptores se encuentran altamente expresados en el hipocampo y en las capas superficiales de la corteza. Por el contrario, las capas profundas de la corteza y el caudado/putamen expresan niveles intermedios. Además de participar en la transmisión rápida de la información sináptica, estos receptores también han sido involucrados en algunas formas de plasticidad sináptica. Asimismo, una excesiva entrada de calcio en condiciones patológicas también contribuye a la muerte de las neuronas.

3.- RECEPTORES DE KAINATO.

El receptor de kainato es el componente del sistema de señalización de glutamato que se ha mostrado más elusivo a los investigadores. La falta de herramientas farmacológicas específicas ha impedido la detección de este tipo de receptores en neuronas del Sistema Nervioso Central (SNC), así como la determinación de sus papeles fisiológicos. Hasta la clonación de las subunidades que forman los receptores de kainato, la evidencia de su existencia como receptores independientes era inexistente y sólo recientemente se han definido los procesos en los que estos receptores están involucrados (Lerma, 1997a).

LA FAMILIA DE SUBUNIDADES DE RECEPTORES DE KAINATO: GLUR5-7, KA1 Y KA2.

La familia de subunidades que puede contribuir a la formación de receptores de kainato nativos se puede dividir en dos subfamilias. La primera incluye las subunidades GluR5, GluR6 y GluR7 y muestran entre sí un grado de homología del 75-80%. Todas estas subunidades generan canales funcionales homoméricos,

conteniendo lugares de baja afinidad para la unión de kainato. La otra subfamilia la constituyen las subunidades KA1 y KA2, las cuales, aunque no forman canales homoméricos por sí mismas, generan lugares de alta afinidad para la unión de kainato cuando se expresan en células de mamíferos.

Mientras que las secuencias de aminoácidos de estas subunidades muestran un grado de homología entre sí del 70%, sólo presentan un 45% de homología con las de la otra subfamilia. De forma similar a las subunidades de otros receptores de glutamato, las subunidades de los receptores de kainato se componen de aproximadamente 900 aminoácidos (≈ 100 KDa) y tienen una topología de membrana similar a la descrita para las subunidades de los receptores de AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico) y de NMDA (ácido N-metil-D-aspartato) (Lerma, 1997).

DIVERSIDAD ESTRUCTURAL.

Los receptores de kainato tienen la misma topología transmembrana y la misma estequiometría que los receptores de AMPA y de NMDA. Es decir, son tetrámeros en los cuales cada monómero lleva su propio lugar de unión y contribuye con una secuencia de aminoácidos específica a la formación del lumen del canal, llamado segmento M2. Ese segmento está compuesto por residuos hidrofóbicos que entran en la membrana formando una estructura en forma de horquilla. Además de esta secuencia hidrofóbica, cada subunidad posee tres segmentos transmembrana (M1, M3 y M4) distribuidos de tal forma que el dominio N-terminal de la proteína se sitúa extracelularmente y la región C-terminal está localizada intracelularmente (Hollmann *et al.*, 1994; Roche *et al.*, 1994; Taverna *et al.*, 1994; Wo y Oswald, 1994; Bennet y Dingledine, 1995). Por analogía con los datos disponibles para los receptores de AMPA, se supone que el sitio de unión a glutamato en los receptores de kainato está formado por residuos distribuidos entre el dominio N-terminal y el lazo extracelular existente entre los segmentos M3 y M4 (Stern-Bach *et al.*, 1994). Sin embargo, la estructura real del bolsillo de unión a kainato debe presentar diferencias significativas entre los distintos receptores de glutamato, que podrían ayudar a explicar, entre otras cosas, porqué los receptores

de AMPA pueden unir kainato con alta afinidad mientras que algunos receptores de kainato no son capaces de unir AMPA.

Algunas subunidades de los receptores de kainato se presentan como isoformas generadas por empalme alternativo de RNAm (Sommer y Seeburg, 1992). La subunidad GluR5 fue inicialmente descrita en dos formas moleculares que difieren en la presencia (GluR5-1) o ausencia (GluR5-2) de un fragmento de 15 aminoácidos en el extremo N-terminal (Bettler *et al.*, 1990). Análisis adicionales revelaron la existencia de dos formas moleculares adicionales para GluR2 (Sommer y Seeburg, 1992), que difieren en regiones del extremo carboxiterminal, por lo que la subunidad GluR5-2 puede presentar 3 regiones o dominios C-terminal diferentes. Estas isoformas se denominaron GluR5-2a (la más corta), GluR-2b y GluR5-2c (la más larga). Se desconoce si estas isoformas presentan el mismo comportamiento farmacológico, puesto que es la subunidad GluR5-2a la que se ha estudiado más, debido a que es la más eficiente a la hora de expresarse cuando se transfecta en células de mamíferos (Sommer y Seeburg, 1992). La existencia de ajuste o procesamiento alternativo no se ha descrito para las subunidades GluR6, KA1 y KA2. Por el contrario, recientemente se ha descrito que la subunidad GluR7 existe en dos variantes generadas por empalme alternativo del RNAm del extremo C-terminal, denominadas GluR7a y GluR7b (Schiffer *et al.*, 1997).

Aunque se ha demostrado que las variantes por empalme alternativo de otros receptores de glutamato son fundamentales para la función del receptor, las implicaciones funcionales de estas variaciones de los receptores de kainato todavía están por determinar. Se podría pensar que estas variantes con diferentes secuencias C-terminales podrían interactuar con diferentes proteínas del citoesqueleto dotando al receptor de un mecanismo de interacción diferencial con distintos sistemas de señalización (Ehlers *et al.*, 1996, Lerma *et al.*, 1999).

De forma similar a otros muchos receptores de neurotransmisores, las subunidades de los receptores de kainato contienen sitios consenso de fosforilación para diversas proteínas cinasas. Así, un residuo de serina en la posición 684 parece ser el principal sitio de fosforilación para la proteína cinasa A (PKA) (Lerma *et al.*, 2001).

Se dispone de algunas subunidades clonadas de pollo, sapo o peces que no forman canales funcionales ni receptores heteroméricos con otras subunidades cuando se expresan en sistemas recombinantes. Estas subunidades han sido designadas proteínas que unen kainato (KBP, kainate-binding proteins), (Lerma et al, 1997b).

La edición de los mRNA es una fuente de heterogeneidad molecular para determinadas proteínas (Cattaneo, 1991; Sommer y Seeburg, 1992). Las subunidades GluR5 y GluR6, pueden sufrir edición postranscripcional del mRNA en un sitio localizado en la posición 590 (GluR6) o 591 (GluR5), conocido como sitio glutamina/arginina (Q/R). Es conocido que las propiedades de rectificación de los receptores de kainato están controladas exclusivamente por el sitio Q/R, de forma análoga a lo observado para los receptores de AMPA (Herb et al., 1992.; Köler et al., 1993). La versión no editada codifica para una glutamina (Q) y muestra una clara rectificación entrante, mientras que la versión editada codifica para una arginina (R) en esta posición y no rectifica (Egebjerg y Heinemann, 1993). GluR6 puede sufrir también edición en dos sitios adicionales localizados en el primer dominio transmembrana, donde una isoleucina puede ser sustituida por una valina (sitio I/V) y una tirosina puede ser sustituida por una cisteína (sitio Y/C). La edición del RNA en estas posiciones tiene consecuencias funcionales en los canales GluR6 homoméricos. Se ha visto que la permeabilidad a calcio de los canales GluR6 es modulada por el sitio Q/R, cuando los sitios I/V e Y/C del primer dominio transmembrana están editados (Khöler et al., 1993). El alcance de la edición es regulado durante el desarrollo. A diferencia de la subunidad GluR2 de los receptores de AMPA, una proporción significativa de subunidades de receptores de kainato no editadas está presentes tanto en el cerebro embrionario como en el adulto (Paschen et al., 1997; Bernard y Khrestchatisky, 1994). Igualmente, se ha observado la edición parcial de las subunidades GluR5 en el sitio Q/R también en neuronas individuales de hipocampo de rata adulta (Mackler y Eberwine, 1993). Aproximadamente el 60% de los mRNAs de GluR5 se encuentran editados en tejido adulto, mientras que para GluR6 la proporción encontrada es del 80%.

DISTRIBUCIÓN CEREBRAL DE LAS SUBUNIDADES DEL RECEPTOR DE KAINATO.

Estudios de hibridación *in situ* han revelado que los receptores de kainato se encuentran ampliamente distribuidos en el sistema nervioso. Sin embargo, los patrones de expresión de las distintas subunidades son bastante heterogéneos (Lerma et al, 2001). Así, el transcrito de GluR5 se encuentra presente sobre todo en neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG), el subiculum, el núcleo septal, el córtex piriforme y cingulado así como en las células de Purkinje del cerebelo (Bettler *et al.*, 1990); GluR6 es abundante en las células granulares del cerebelo, en el giro dentado y en la región CA3 del hipocampo, al igual que en el estriado. La subunidad GluR7 está presente con bajos niveles en el cerebro, pero se expresa en particular en las capas profundas de la corteza cerebral, el estriado, y en las neuronas inhibitoras de la capa molecular del cerebelo. KA1 se restringe de forma casi exclusiva a la región CA3 del hipocampo, aunque también se expresa en bajos niveles en el giro dentado, en la amígdala y en la corteza entorrinal (Werner *et al.*, 1991, Rodríguez-Moreno et al, 2000). Por el contrario, el mensajero de KA2 se encuentra prácticamente en todos los núcleos del sistema nervioso.

Aunque las diferentes subunidades de los receptores de kainato están ya presentes a nivel embrionario, la expresión emerge durante el período postnatal. Así, la cantidad de mRNA de GluR5 alcanza un pico entre P0 y P5, y luego comienza a declinar hasta los valores adultos. Esto ocurre también con otras subunidades.

Por otra parte podríamos señalar que el blanco del kainato para las alteraciones de los patrones del sueño, es principalmente la formación reticular ascendente la cual es provocada por el ácido kaínico por medio de estimulaciones repetidas, las cuales causan daño neuronal principalmente en el hipocampo y la corteza cerebral.

La relación de sueño y epilepsia es influenciada por el tratamiento farmacológico. Los antiepilépticos (AEDs) controlan las crisis y modifican la estructura hipnagógica en animales y humanos (Gigli y cols, 1997).

Hay nuevos AEDs que presentan menos efectos secundarios comparados con los efectos secundarios de los fármacos tradicionales.

Se sabe muy poco de los efectos secundarios en la estructura del sueño tanto en los AEDs tradicionales y nuevos; por esta razón se realizan estudios con AEDs nuevos como Lamotrigina, Gabapentina, etc., comparándolos con Carbamazepina (Placidi y Diomedi, 2000).

Para realizar estas comparaciones debemos saber cuales son los efectos secundarios que causan los antiepilépticos sobre la estructura del sueño.

FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS (AEDS)

La selección de un fármaco varía con la experiencia, preferencia personal, el deseo de evitar efectos secundarios y el tipo de crisis (Tabla 1).

CRISIS	FÁRMACO
Parcial simple y compleja con o sin generalización secundaria.	Carbamazepina, Fenitoína, Ácido Valpróico, Divalproex de sodio
Epilepsias tónico-clónico generalizada primaria	Ácido Valpróico, Carbamazepina Fenitoína
Ausencia	Etosuximida, Ácido Valpróico
Mioclónica	Ácido Valproico, Benzodiazepinas

Tabla 1. Muestra la selección de fármacos de acuerdo a las crisis epilépticas

Los fármacos de segunda línea son útiles para una variedad de crisis epilépticas incluyendo los barbitúricos, fenobarbital, mefobarbital y primidona. Los productos de degradación de primidona son ácido feniletilmalónico y fenobarbital, cada uno con propiedades antiepilépticas. Las benzodiazepinas antiepilépticas incluyen a diazepam, clonazepam, clorazepato, lorazepam y midazolan.

Recientemente se han desarrollado nuevos AEDs que son utilizados en la terapia para crisis parciales con generalización secundaria entre ellos Felbamato

puede tener un papel como un fármaco de segunda línea de los AEDs, pero se ha asociado con anemia aplásica y daño al hígado, además de somnolencia diurna. La Gabapentina y Lamotrigina son usados como fármacos de segunda línea para crisis parciales y generalización secundaria (Lai y Huang, 1993).

MECANISMO DE LOS FÁRMACOS ANTIEPILEPTICOS

El conocimiento de **mecanismos básicos de la epilepsia mediante modelos animales**, ha servido para desarrollar fármacos antiepilepticos. Los antagonistas de canales de calcio, como flunarizina, (Morselli y Bosi, 1982) la inhibición de la degradación de GABA, como vigabatrina, (Sherwin, 1988) y otros agentes GABAérgicos, tales como progabida, han sido desarrollados por estos mecanismos.

El aumento de la inhibición sináptica de farmacos GABAérgicos parece ser un importante mecanismo de acción de benzodiazepinas (Schliebs y cols, 1989) y barbituratos (Faigle and Feldman, 1982), fenitoína, carbamazepina, ácido valproico y fenobarbital pueden inhibir repetidas descargas de neuronas en un foco epiléptico (Morris y cols, 1987, Tsai y cols, 1992). Varios de estos fármacos también pueden inhibir corrientes de calcio en **ciertos modelos**, quizás relacionado a su acción antiepileptica (Yukawa, 1996). El bloqueo de canales de sodio también parece inhibir el rompimiento celular epileptiforme (Willow y cols, 1984), Lamotrigina parece actuar en el voltaje-sensitivo de los canales de sodio para inhibir la liberación presináptica de glutamato. El agente antiausencia, etosuximida, parece inhibir una corriente particular de calcio en las neuronas talámicas involucradas en la actividad rítmica talámica (Richens, 1977).

El ácido valproico puede antagonizar el metabolismo de degradación de GABA, pero es probable que requiera concentraciones mayores a las terapéuticas. La gabapentina no tiene efecto en el GABA u otro sistema neurotransmisor conocido, pero puede actuar en un sitio de unión específico similar al sistema de transporte del ácido L-amino para modular la actividad de crisis. La mejor evidencia es vigabatrina como un inhibidor irreversible de la destrucción de GABA incrementando los niveles de GABA en el cerebro (Rowland y Tozer, 1989, González y cols 1999)

Son tres los mecanismos principales de los fármacos antiepilépticos, sin embargo tal vez cada fármaco actúa a varios niveles (Fig.4):

- Aumento de la inhibición sináptica mediada por el GABA.** En presencia del GABA, el receptor GABA_A, se abre y se produce un flujo de iones cloro que aumentan la polarización de la membrana. Existen fármacos que disminuyen el metabolismo del GABA (ácido valproico, vigabatrina) y otros actúan sobre el receptor GABA_A (barbitúricos, benzodiacepinas, felbamato, topiramato).
- Inhibición de los canales de iones sodio** (hidantoínas, carbamacepina, ácido valproico, lamotrigina, felbamato, topiramato, zonisamida) y del calcio (pentobarbital). Algunos también actúan sobre los receptores del glutamato.
- Reducción o inhibición del flujo de calcio a través de los canales de calcio tipo T** (principal mecanismo de los fármacos que controlan las crisis de ausencia): ácido valproico, etoxusimida, trimethadiona, zonisamida.

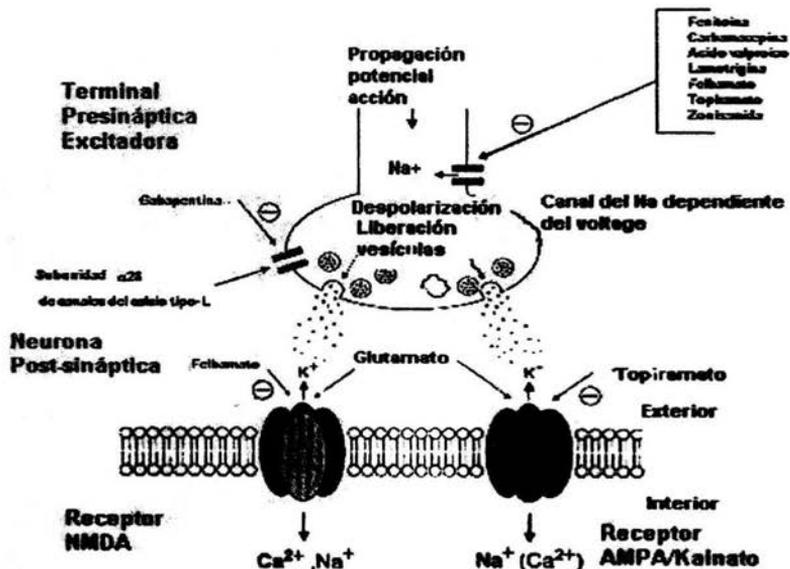


Fig. 4 Esquema de la sinapsis excitadora en el sistema nervioso central, donde se muestran las zonas de acción de fármacos antiepilépticos sobre la terminal presináptica glutamatérgica, sitio de acción de la CBZ.

CARBAMAZEPINA COMO ANTIEPILÉPTICO DE PRIMERA ELECCIÓN

CARBAMAZEPINA.

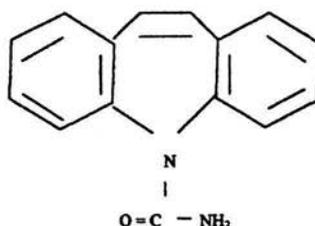


Fig. 5 Fórmula estructural de la carbamazepina

QUÍMICA.

La Carbamazepina (CBZ) es miembro de la familia de iminoestilbenceno con un grupo carbonilo, el cual es esencial para su efecto antiepiléptico. Tiene relación química con los antidepresivos tricíclicos (Fig 5); esta estructura tricíclica la hace insoluble en agua. El coeficiente de partición de la CBZ es 58 en un sistema de octanol/agua (Hershkowitz, 1978).

Mecanismo de acción:

Se ha descrito en animales así como en humanos que la CBZ tiene acción sobre los canales de Na^+ sensibles al voltaje, además de aumentar la frecuencia de las descargas de neuronas noradrenérgicas en el Locus Coeruleus de la rata. La CBZ también interacciona con los sitios de unión periféricos. El compartimiento sanguíneo (central) está unido o ligado, independientemente de algún otro compartimiento periférico, directamente al compartimiento efector, donde la CBZ interactúa de manera reversible conduciendo a eventos fisiológicos y bioquímicos que reflejan el efecto farmacológico de la CBZ. Este modelo sólo puede ser aplicado cuando existe un retraso en establecerse el equilibrio entre la concentración del compartimiento sangre y el compartimiento efector. En la figura 6

se representa esquemáticamente el modelo dinámico para la acción antiepiléptica de la CBZ.

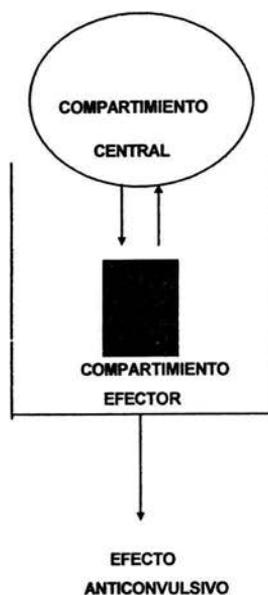


Fig. 6 Modelo farmacocinético-farmacodinámico con un compartimento efector propuesto para la CBZ.

Para este modelo en particular, el compartimento sanguíneo llena al compartimento efector, y la constante de transferencia de salida del fármaco del compartimento efector (K_{eo}) caracteriza el aspecto temporal del equilibrio entre la concentración sanguínea (C_s) y el sitio efector. Por lo tanto K_{eo} es un parámetro del modelo que caracterizará el grado de histéresis (Fuseau y Sheiner, 1984).

Este concepto fue propuesto por Dalström y cols (1978) para describir la respuesta analgésica de la morfina en ratas y luego desarrollado por Holford y Sheiner (1981) para describir la acción de la d-tubocurarina y a partir de ahí ha sido utilizado como un modelo más general (Holford y Sheiner, 1981; Fuseau y Sheiner, 1984).

Los estudios farmacológicos de Theobal y Kuntz en modelos animales revelaron una eficacia potente de la CBZ contra crisis inducidas por electroshock.

Estudios realizados de cortes del hipocampo han demostrado una reducción de descargas en un ambiente libre de calcio, asociado a una membrana directa en lugar de la acción de un neurotransmisor mediador. La confirmación de esta membrana neuronal fue importante para los estudios de McLean y McDonald, en los cuales indican un efecto en el canal de sodio en el "estado inactivo" (Okada y cols, 1997). Con estos estudios se dio a conocer ampliamente el mecanismo de acción de la CBZ:

La CBZ estabiliza las membranas nerviosas hiperexcitadas, inhibiendo las descargas neuronales repetitivas y reduce la propagación sináptica de los impulsos excitatorios. Es posible que el bloqueo de los canales de sodio sensibles al voltaje sea uno o incluso el principal mecanismo de acción (Okada y cols, 1997)).

Se han dado a conocer dos formas generales en la que la CBZ puede atenuar una crisis epiléptica:

- La reducción de la descarga excesiva de las neuronas patológicamente alteradas.
- Limitar la difusión de la excitación desde el foco e impedir la detonación e interrupción de la función de grupos normales de neuronas.

Al parecer estos mecanismos de acción son debidos a la activación de los circuitos inhibidores GABAérgicos que se producen en muchas regiones del SNC, pero no se ha podido identificar cuáles neurotransmisores inhibitorios funcionan en el sistema.

Se han postulado otros mecanismos de acción, aún en estudio:

- Consiste en que la CBZ aumenta las descargas de neuronas norepinefrínicas en frecuencia y esto contribuiría a sus acciones antiepilépticas.
- Otro mecanismo se refiere a la inhibición de la fijación de análogos de la adenosina en las membranas celulares del encéfalo en forma parcial por parte de la CBZ; la adenosina puede ejercer potentes efectos inhibitorios y postsinápticos sobre las neuronas; sin embargo no se ha podido deducir con exactitud el papel de la CBZ sobre los receptores de la adenosina en sus efectos antiepilépticos.

FARMACOCINÉTICA.

La farmacocinética de la CBZ es compleja, está influenciada por su limitada solubilidad acuosa y su capacidad de inducir su propio metabolismo hepático.

La CBZ se fija a las proteínas séricas principalmente albúmina en un 70-80%. Una pequeña cantidad se fija a ácido α -glicoproteína. La fracción libre puede cambiar bajo condiciones medicas que presentan niveles bajos en suero de albúmina, tales como deficiencia hepática o renal, alterando las propiedades de unión al ácido α -glicoproteína. La concentración de la sustancia inalterada en el líquido cefalorraquídeo y la saliva refleja la porción (20–30%) no fijada a las proteínas en el plasma (Morselli, 1982; Morris y cols, 1987)

La CBZ es distribuida por el tejido presentando un volumen de distribución aparente de aproximadamente 1.5 ml/kg (Glazko, A. J., 1995).

La CBZ es metabolizada en el hígado en un rango aproximado del 98%, donde la vía epóxido de biotransformación es la más importante primero es oxidada por el sistema del citocromo P₄₅₀ formando el metabolito activo CBZ 10,11-epóxido (cbz 10,11-epóxido), este metabolito es hidrolizado por la hidrolasa epóxido microsomal para transformarlo en transcarbamazepina-diol el cual es excretado por la orina en forma libre y conjugada (Fig. 7).

Entre el 33-60% de una dosis oral es metabolizada vía epóxido. Otra vía importante de biotransformación de la cbz da lugar a diversos compuestos monohidroxilados y al N-glucurónido de cbz. (Bertilsson, 1986, Levy, 1995).

La vida media de la CBZ es cerca de 24 – 36 horas después de una dosis oral única, pero la autoinducción durante la administración repetida utilizada como monoterapia lleva a una vida media de 12 - 15 horas (Gibaldi, 1991). En pacientes que reciben un tratamiento con fármacos que inducen enzimas hepáticas, incluyendo fenitoína y fenobarbital; se han encontrado valores de vidas medias de 9–10 horas en promedio.

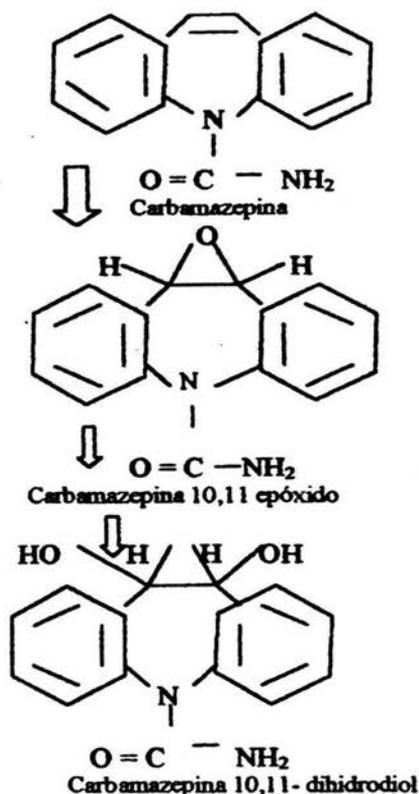


Fig. 7 Biotransformación de la carbamazepina

La biotransformación puede ser inhibida por la coadministración de un número de fármacos, como macrolidos (eritromicina), cimetidina, bloqueadores de canales de calcio (verapamil), y varios imidazoles (Fuseau y Sheiner, 1984). La hidrolasa epóxido puede ser también inhibida, por valproato y antiepilépticos comunes usados junto con CBZ cuando la monoterapia no es suficiente (Holford y Sheiner, 1981).

La autoinducción es un factor importante en la rápida intolerancia y reduce subsecuentemente la eficacia. Los pasos de epoxidación e hidratación del metabolismo de la CBZ son eficientes en cuanto a la duración de un tratamiento que va en aumento. (Harvey y Champe, 1992). Estas propiedades pueden causar reacciones adversas al inicio del tratamiento, particularmente si la dosis inicial no

se encuentra dentro de las concentraciones adecuadas. La autoinducción puede después causar una disminución de los niveles de CBZ en la sangre causando principalmente una disminución en la eficacia y quebrantar en las crisis. Esto ha demostrado que la vida media en plasma de la CBZ se disminuye significativamente durante el aumento del tratamiento. (Touchon y cols, 1987).

Se ha demostrado clínica y experimentalmente que la CBZ es efectiva en el control de crisis psicomotoras (Yukawa, 1996). En diversos artículos se ha mostrado que la CBZ es efectiva en el control de las crisis epilépticas pero desafortunadamente no puede reparar los trastornos producidos en el sueño por estas crisis. (Touchon y cols, 1987)

Por otra parte, se ha mostrado que la actividad eléctrica cerebral (EEG) es una herramienta útil para monitorear la función y el metabolismo cerebral, siendo una de las variables fisiológicas más sensibles para detectar actividad epileptiforme (Jordan, 1993) y para la clasificación de los diferentes tipos de epilepsia (Niedermeyer, 1987). Así mismo, numerosos estudios muestran una correlación entre la actividad eléctrica cerebral y la dosis administrada de fármacos clínicamente activos (Matejcek y Devos, 1976). En los estudios sobre la relación del sueño y la epilepsia enfocados al efecto de las crisis convulsivas, focales o generalizadas sobre la organización del sueño y la incidencia de las crisis según las diferentes fases de éste, los resultados descritos hasta el momento señalan que ambos tipos de crisis, presentan un efecto deletéreo sobre las fases del sueño, principalmente sobre la fase de sueño MOR (Calvo, 1992).

JUSTIFICACIÓN

Debido a que la CBZ es uno de los anticonvulsivantes de primera elección más utilizados en la clínica, se consideró importante analizar su efecto farmacológico sobre la actividad eléctrica cerebral, principalmente sobre los patrones del sueño. También es relevante evaluar las alteraciones neuroanatómicas producidas por el desencadenamiento del *status epilepticus* inducido por la administración de ácido kaínico como modelo de epilepsia del lóbulo temporal más una dosis de CBZ. Este y otros modelos experimentales, han permitido el estudio de los diferentes efectos de fármacos con características potencialmente

anticonvulsivantes, además de que en este modelo, con AK, el desencadenamiento de las crisis así como sus características paroxísticas son muy similares a las desencadenadas por la epilepsia del lóbulo temporal en el humano, por lo que ésto nos da una idea de lo que puede ocurrir en el cerebro humano.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la administración de carbamazepina sobre los patrones de sueño en un modelo de epilepsia inducida por ácido kaínico.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Observar en este trabajo el daño cerebral provocado por las crisis convulsivas inducidas por la administración subcutánea del ácido kaínico como se ha reportado.
- Desarrollar un método de muestreo en la rata, para la determinación de los niveles sanguíneos de la carbamazepina.
- Realizar la farmacocinética de la carbamazepina en la rata.
- Correlacionar la farmacocinética y farmacodinamia (número de crisis presentadas) para evaluar la eficacia de la carbamazepina en este modelo.

HIPÓTESIS

La epilepsia desencadenada por la administración de AK en éste modelo animal, modifica los patrones del ciclo sueño-vigilia, como ya ha sido ampliamente documentado, entonces al administrar CBZ antes de inducir la epilepsia esperamos que haya una recuperación en cierto grado de los patrones de sueño.

MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron 30 ratas macho de la cepa Wistar de 250 a 280 g de peso, las cuales fueron mantenidas en cajas individuales y en condiciones óptimas de bioterio (Temperatura de 16-21°C, humedad relativa 45%) periodo de luz/oscuridad 12:12, iniciando el periodo de luz a las 8:00 a.m., comida y agua *ad libitum*.

Después de un periodo de adaptación en una cámara sonoamortiguada, donde se llevaron a cabo los registros polisomnográficos, bajo anestesia general con pentobarbital sódico (50 mg/Kg de peso), a un grupo de 20 ratas se les colocaron crónicamente electrodos bipolares de acero inoxidable en la corteza motora y músculo del cuello para registrar la actividad cerebral (EEG) y muscular (EMG), tanto en condiciones control como experimental (Fig 8).

PROCEDIMIENTO.

Después de 7 días de recuperación de la intervención quirúrgica, a un primer grupo de 10 ratas se les realizó un registro poligráfico control durante 10 horas (día 0), utilizando un polígrafo de 10 canales (marca GRASS mod. 7D), de las 8:00 hrs. a.m. a las 18:00 hrs. p.m. Al siguiente día (experimental, día 1) se les administró 10 mg/kg de peso de ácido kaínico (AK), según Spork, 1994 y Leepik, 1998, vía subcutánea, desencadenando las crisis epilépticas 30 minutos después de la administración, y se les realizó un registro de 10 horas continuas para evaluar el efecto de la administración del ácido kaínico.

A partir del día siguiente (de recuperación, día 2) hasta el quinto día se les realizaron registros poligráficos de 10 horas continuas (de las 8:00 hrs. a.m. a las 18:00 hrs. p.m.), con el fin de observar la recuperación de las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia.

A un segundo grupo de 10 ratas también implantadas de manera crónica, después de 7 días de recuperación de la intervención quirúrgica, se les realizó un registro poligráfico (EEG y EMG) control durante 10 horas (día 0). Al siguiente día se les administró a través de una sonda gástrica la CBZ (25 mg/kg de peso), disuelta en etanol y carboximetilcelulosa al 5%, 30 minutos antes de inducir la

epilepsia, con Ak (10 mg /kg de peso) disuelto en solución salina. Enseguida se llevó a cabo un registro poligráfico continuo de 10 horas (de las 8:00 hrs. a.m. a las 18:00 hrs. p.m.), cuantificándose la intensidad y duración de las crisis convulsivas desencadenadas por el AK, solo que ahora con la administración del anticonvulsivante (CBZ), 30 minutos antes.

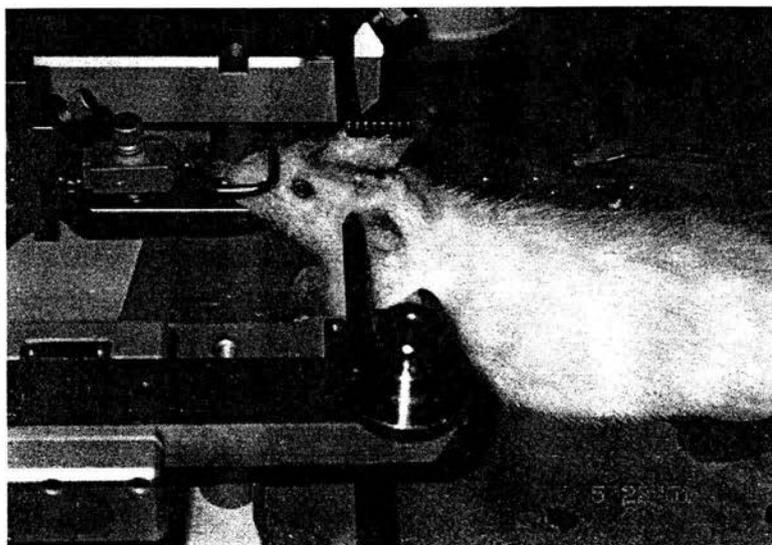


FIG 8. Se muestra en la figura la cirugía del implante de los electrodos, utilizando un aparato esterotáxico.

Al tercer día (día 2) y hasta el tercer día de la administración del anticonvulsivante y el AK se llevaron a cabo registros de 10 horas de registro continuo, para observar si persistía algún efecto de las crisis convulsivas.

Se cuantificaron por el lapso de las 10 horas, las sacudidas de cabeza y cuerpo (sacudidas de perro mojado) después de la administración del AK.

Se obtuvo el porcentaje de eficacia de la dosis de CBZ empleada tomando como referencia la intensidad y duración de las crisis convulsivas obtenidas con la administración única del ácido kainico.

ANÁLISIS DE LOS DATOS DEL EEG

Los resultados poligráficos se analizaron visualmente y se clasificaron como: Vigilia, caracterizado por una desincronización en el EEG de baja amplitud y alta frecuencia y una acentuada presencia del tono muscular (EMG). Sueño de Ondas Lentas (SOL), caracterizado por husos de sueño además de ondas de alto voltaje ($75\mu\text{V}$), y baja frecuencia, seguido de una disminución del tono muscular. Sueño MOR, caracterizado por desincronización del EEG y una ausencia de voltaje en el EMG (Fig 9). Los registros de 10 horas c/u y se cuantificaron de acuerdo al número de épocas en que se presentó cada estado de vigilancia; la duración de cada época se estableció en 25 segundos y se siguió el criterio de considerar determinado estado de vigilancia solo si este abarcaba el 89% a juicio de dos calificadores independientes. Posteriormente se obtuvo el tiempo total empleado por los animales en cada estado de vigilancia y se calculó el porcentaje dentro del registro. Los parámetros de sueño se expresaron como media \pm STD. Los resultados obtenidos bajo condiciones control fueron comparados con los obtenidos después de la administración de KA y con los obtenidos con el tratamiento de CBZ más AK por un análisis de varianza (ANOVA). * $P < 0.01$, ** $p < 0.001$ fueron considerados significativos.

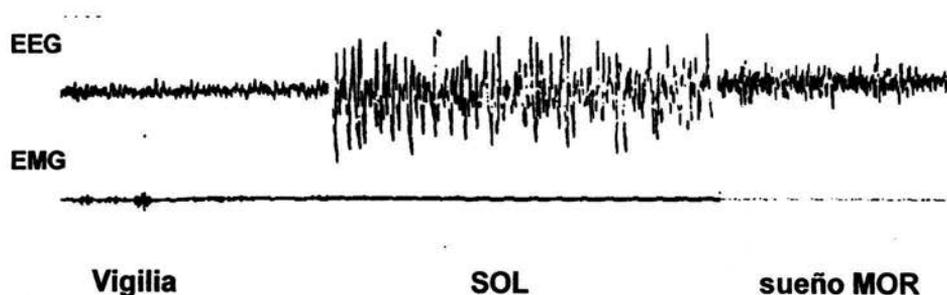


Fig. 9 Muestra las características del EEG (corteza) y EMG (músculo del cuello), durante los tres estados de vigilancia en la rata.

TÉCNICA HISTOLÓGICA

Posteriormente, a los 2 grupos (1.- AK 10 mg/kg y 2.-CBZ 25 mg/kg + AK 10 mg/kg) se les procesó para realizar un análisis histológico, para detectar los daños provocados por los fármacos.

Bajo anestesia general con Pentobarbital (50 mg/kg de peso), las ratas se perfundieron por vía intraventricular con solución salina y buffer-formalina (pH 7.2) al 10%. Se diseccionaron los cerebros y se realizaron cortes coronales (11 μ m) para su procesamiento por medio de la técnica de Violeta de Cresilo y Klüver-Barrera.

EVALUACIÓN DE LA FARMACOCINÉTICA DE LA CBZ

Con el fin de realizar una correlación entre las crisis epilépticas y la farmacocinética de la CBZ, a un tercer grupo de 10 ratas, bajo anestesia general (Ketamina 35 mg/kg, Xilacina 3 mg/kg), se les implantó una cánula de polietileno (PE-10) en la vena yugular para el muestreo sanguíneo, y llevar a cabo la farmacocinética de la CBZ. Se tomó una muestra basal al terminar la cirugía (muestra 0), posteriormente se administró por vía oral mediante sonda gástrica, CBZ a una dosis de 25 mg/kg, disuelta en etanol y carboximetilcelulosa al 5% (previamente preparada con solución salina) (Fig. 10), y se procedió al muestreo a los 10, 20 y 40 minutos y a la 1, 2, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después de administrada la CBZ, para llevar a cabo el análisis farmacocinético. A las ratas se les colocó en cámaras metabólicas para facilitar el muestreo (Fig.11).

La CBZ se administró 30 min antes de inducir las crisis convulsivas con 10mg/Kg de ácido kainico por vía subcutánea. Las sacudidas de cabeza y cuerpo (sacudidas de perro mojado) se comenzaron a cuantificar 15 minutos después de la administración del AK, y a lo largo de todo el registro (10 horas).



Fig. 10 Administración de la CBZ por medio de una sonda gástrica

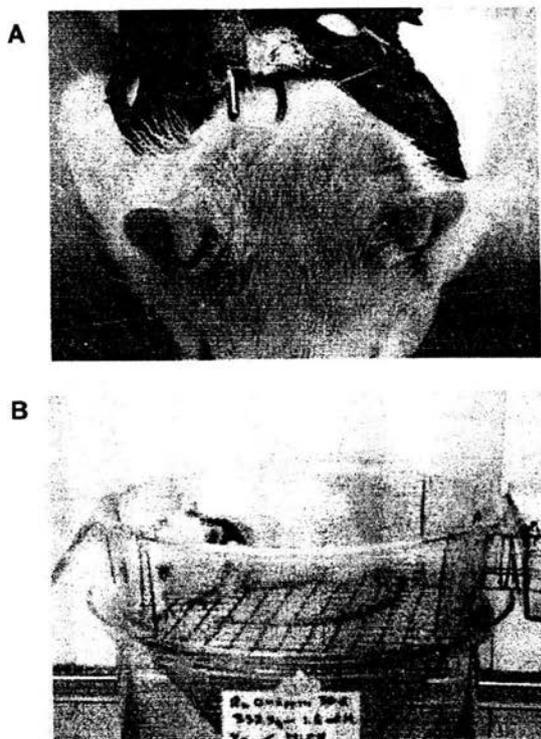


Fig. 11 En (A) se muestra la vista frontal, en la cual se aprecia la cánula heparinizada, en (B) se muestra a la rata dentro de una caja metabólica durante el tiempo de toma de muestras. (Fotos de la M en C Gabriela Fernández-Saavedra).

DETERMINACIÓN DE CARBAMAZEPINA EN PLASMA

La primera solución se preparó disolviendo CBZ y el estándar interno (oxcarbacepina) en metanol obteniendo una concentración de 1 mg/ml de la cual se hicieron las diluciones en fase móvil.

Método de Extracción.

A cada muestra de plasma se le sometió a un proceso de extracción previo a su análisis cromatográfico. Este proceso consistió en adicionar a 500 μ l de plasma, 100 μ l de CBZ con una de las concentraciones de la curva (0.5, 1, 2, 5, y 10 μ g/ml), 100 μ l del estándar interno (oxcarbacepina) de una concentración de 10 μ g/ml, posteriormente se agregaron 4ml de diclorometano a cada tubo. Esta mezcla se agita en un Vórtex a la máxima velocidad por 2 minutos. Las muestras se centrifugan por 20 minutos a 3500 rpm. Se separa la fase orgánica y se evapora a sequedad en un baño María a 45°C bajo corriente de nitrógeno. El extracto seco se reconstituyó en 200 μ l de una solución de acetonitrilo-agua en una proporción 40:60 (v/v) y se inyectaron 100 μ l al sistema cromatográfico. Todas las determinaciones se realizaron a temperatura ambiente a una longitud de onda de 215 nm.

Sistema Cromatográfico

Se utilizó un cromatógrafo Waters, el cual consta de una bomba mod 510, un inyector U6-K, una columna de fase inversa; μ Bondapak C-18 de 30 centímetros de longitud, 3.9 mm de diámetro y 10 μ m de tamaño de partícula, conectadas a un detector de luz ultravioleta con longitud de onda variable por la que se hizo pasar una fase móvil compuesta por una mezcla de acetonitrilo-agua en proporción 30:70 (v/v), con un flujo de 2 ml por min (Fig.12).

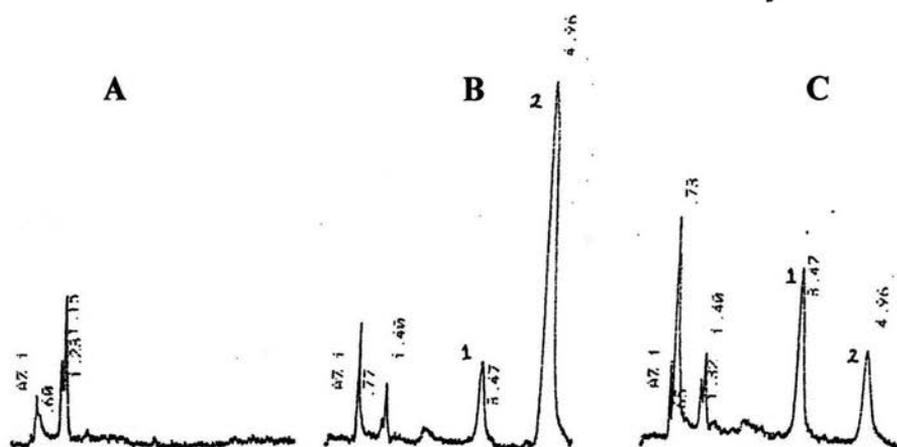


Fig. 12 Muestra tres cromatogramas típicos obtenidos al inyectar extractos sanguíneos al sistema cromatográfico. El cromatograma **A)** corresponde a una muestra sanguínea libre del fármaco, el **B)** corresponde a un extracto de sangre al que se le administraron cantidades conocidas del estándar interno (oxcarbacepina marcado con en No 1) más CBZ (2). El cromatograma **C)** es de una muestra de sangre, 30 minutos después de administrarle 25mg/kg de CBZ al animal, adicionándole a la muestra el estándar interno antes de la extracción. Los tiempos de retención de estos compuestos fueron de 3.47 min para la oxcarbacepina (estándar interno) y de 4.96 min para la CBZ.

RESULTADOS.

EFFECTO DEL ÁCIDO KAÍNICO SOBRE LOS PATRONES DE SUEÑO

El primer grupo al cual se le administró solo ácido kaínico (10 mg/kg de peso), presentó los siguientes resultados: Bajo condiciones control los animales mostraron los tres estados de vigilancia: Vigilia (V), Sueño de Ondas Lentas (SOL), y Sueño MOR.

Durante la vigilia, las ratas presentaron diferentes tipos de conducta; exploratoria, alimenticia, de ingesta de agua o acicalamiento. La actividad cerebral se caracterizó por patrones de ondas de alta frecuencia y bajo voltaje. El (EMG) mostró actividad eléctrica originada por los músculos del cuello, los cuales mostraron aumento en el tono muscular producido por los movimientos del animal.

Al iniciarse el sueño coincide con una conducta pasiva. Las ratas permanecieron sin actividad a lo largo del SOL, ojos cerrados pero con ausencia de movimientos oculares, la actividad cerebral mostró patrones de baja frecuencia y alto voltaje, el tono muscular disminuyó pero sin estar ausente EMG. El sueño MOR siguió al SOL. La actividad cerebral (EEG) fue similar a la observada durante la vigilia, aunque la actividad muscular permaneció ausente a excepción de esporádicas mioclonias causadas por sacudidas de las extremidades del animal (EMG).

La cuantificación de los datos se realizó de la siguiente manera: Bajo las condiciones control las ratas pasaron durante la vigilia 182.72 ± 27.8 min., del tiempo total de registro (10 horas), durante el sueño de ondas lentas permanecieron 412.41 ± 29 min., y 70.5 ± 8.3 min., durante el sueño MOR.

El tiempo total de sueño correspondió al 68% de un periodo de 10 horas de registro del cual el 9% correspondió al sueño MOR y 59% al SOL, la fase de sueño MOR ocurrió solo después de varios minutos de SOL, nunca se observó seguido de la fase de vigilia.

Durante el día 1 (experimental) el registro electroencefalográfico obtenido después de la administración del AK (Fig. 13).

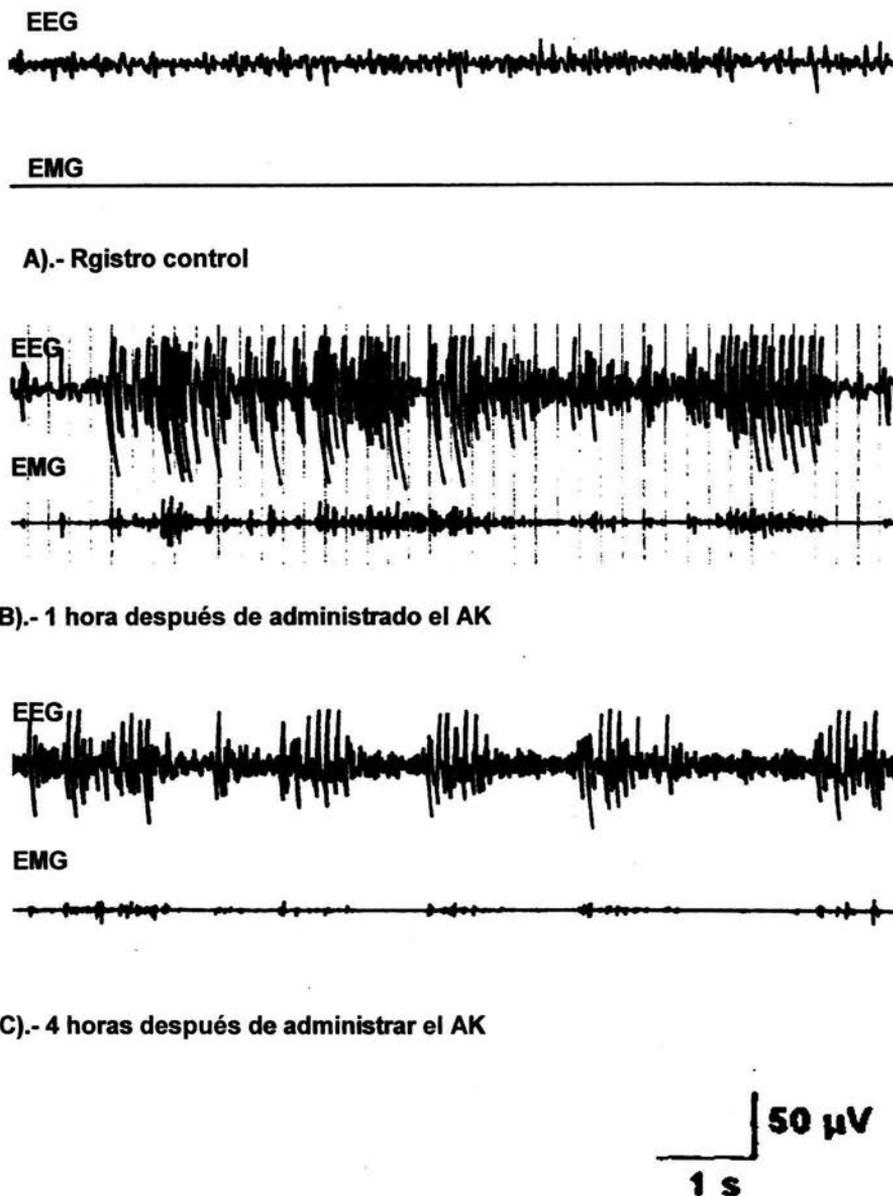


Fig. 13 Muestra los registros del EEG y EMG de una rata a la cual se administró solamente AK, A) Registro control, B) Registro de 1 hora después de la administración s.c. de AK y C) Registro de 4 horas después de administrar el AK.

Se observó que este neuroexcitador inducía progresivamente alteraciones motoras como; inclinación de la cabeza, actividad de masticación, y sacudidas de cabeza y cuerpo (wet dog shakes -"Sacudidas de perro mojado"-), el cual fue seguido de crisis generalizadas, esta conducta fue acompañada por una intensa salivación, por varias horas los animales presentaron descargas recurrentes, hasta que éstas declinaron casi al final del tiempo total del registro, los animales terminaron exhaustos, permaneciendo en vigilia durante el tiempo total de registro (Fig. 14). Tanto el SOL como el sueño MOR permanecieron totalmente ausentes (Figs. 15-16). Al siguiente día, a lo largo del periodo de registro, se presentó una recuperación en el SOL, permaneciendo disminuido hasta el tercer día de registro, a partir del cuarto día el registro alcanzó sus valores normales, al mismo tiempo, la cantidad de vigilia fue disminuyendo progresivamente (Figs. 14-16).

El sueño MOR permaneció casi ausente al segundo día de registro, presentando una recuperación al tercer día de registro aunque sin alcanzar sus valores normales hasta el 4 y 5 día de registro.

Al 4 y 5 día de registro los estados de vigilancia retornaron a sus valores control. Un hallazgo interesante es el hecho que el sueño MOR no presentó un incremento compensatorio, contrario a lo que se esperaría después de un largo periodo de inhibición.

EFFECTO DE LA CARBAMAZEPINA + ÁC KAÍNICO SOBRE LOS PATRONES DE SUEÑO

Los resultados mostraron que las crisis epilépticas inducidas por la administración de AK afectaron la organización de los patrones de sueño.

Por otro lado la CBZ (25 mg/Kg de peso) ejerció un efecto de recuperación sobre los patrones de sueño contra la administración del AK (10 mg/Kg de peso). El primer día de registro con la administración de CBZ se presentó durante el registro la aparición de SOL aunque con un decremento del 28% con respecto al control y un aumento de la vigilia del 28% con relación al control, Las crisis disminuyeron a partir de la 3 y 4 hora de registro, El EEG y EMG mostraron cambios notables de acuerdo a las ratas aque solo recibieron AK (Fig 17).



A).- Registro control



B).- 1 hora después de administrar la CBZ + AK



C).- 4 horas después de la administración de CBZ+ AK

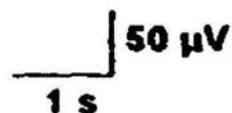


Fig. 17 Muestra los registros del EEG y EMG de una rata a la cual se administró CBZ 30 minutos antes de aplicarle el AK vía s.c., A) Control, B) 1 hora después de la administración s.c. de AK y C) 4 horas después de administrar el AK.

Al tercer día de registro ya se presentaron valores normales de vigilia y SOL , en cambio el sueño MOR permaneció inhibido durante el primer día de registro experimental, apareciendo al segundo y tercer día de registro con valores similares a los del control (Fig. 18 y 19). Cabe señalar que tampoco se registró un efecto de rebote compensatorio en el sueño MOR después del día 1 experimental durante el cual estuvo ausente.

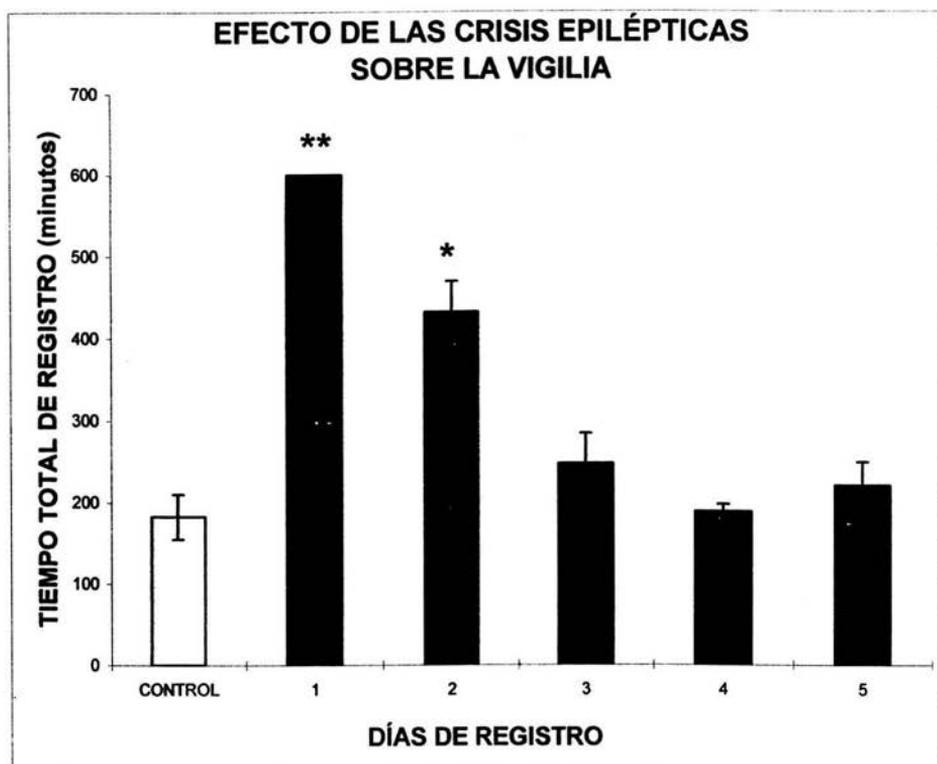


Fig 14. Los animales tuvieron un periodo de 10 horas de registro control (día 0) a partir del día 1 se administró AK y se observó que los animales permanecieron en vigilia todo el registro (10 horas). La cantidad de vigilia disminuyó progresivamente a través de los días subsecuentes de registro, ($n=10$, media \pm std, $*p<0.01$; $**p<0.001$).

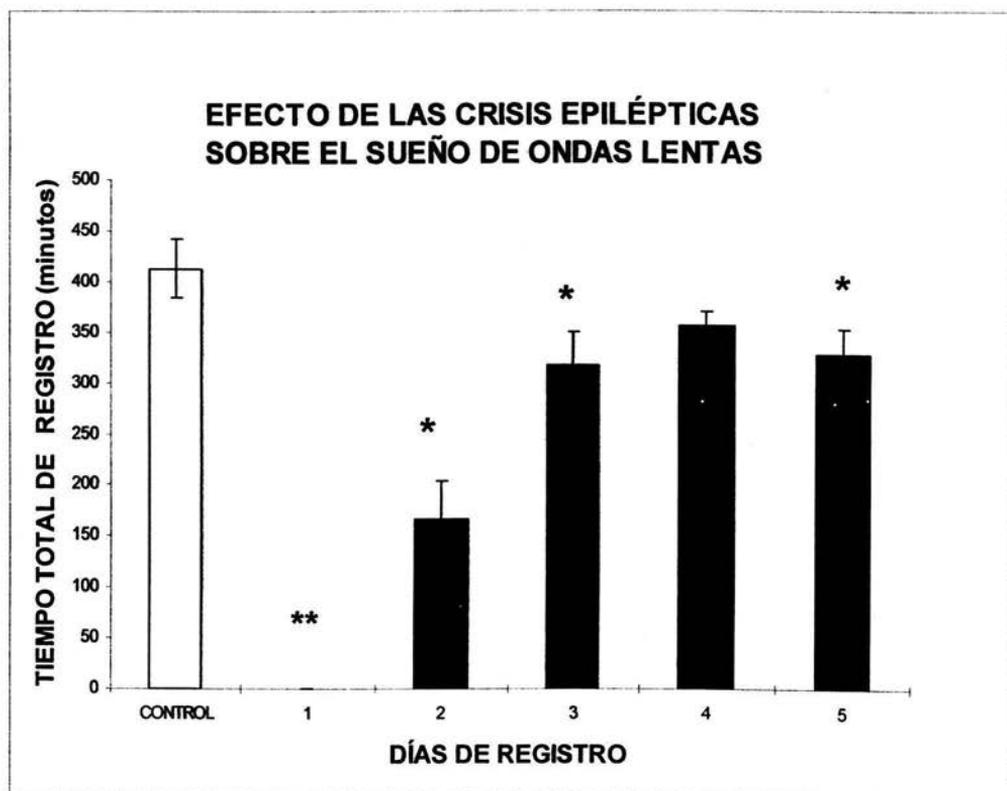


Fig 15. Registro control (día 0). En el día experimental 1 esta fase de sueño está completamente inhibida. A partir del día experimental 2, este efecto inicial fue seguido por una recuperación progresiva de esta fase de sueño, aunque no alcanza los valores normales. (n=10, media \pm std, * p<0.01; **p<0.001).

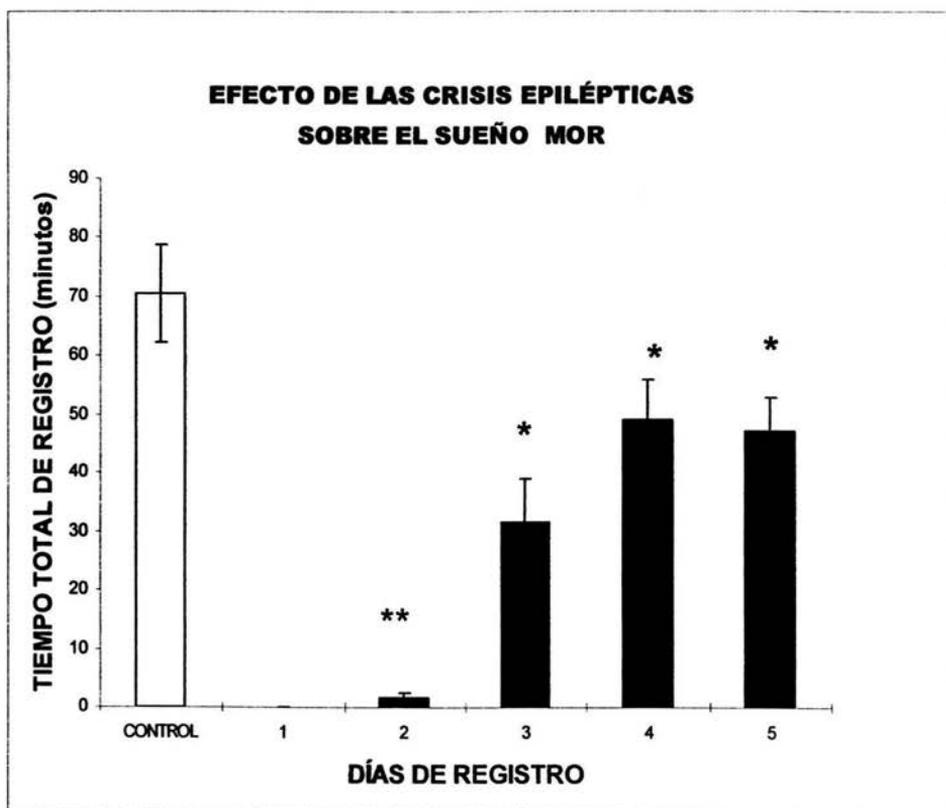


Figure 16. Control, día 0; 10 horas de registro. El primer día experimental el sueño MOR es completamente inhibido después de administrar el AK, seguido por una recuperación progresiva aunque no alcanza los valores control hasta el día experimental 5, (n=10, media \pm std, *p<0.01; **p<0.001).

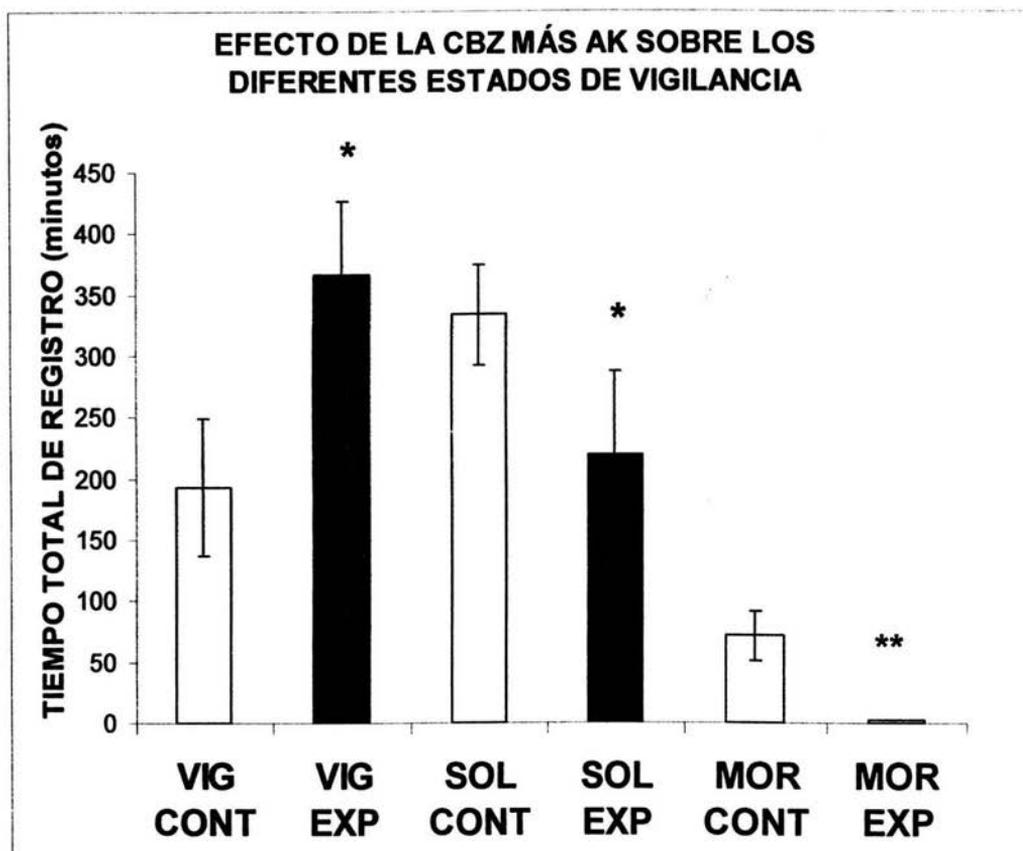


Fig. 18 Se muestran 10 horas de registro Control (Barras blancas) y 10 horas de registro después de la administración de AK con pretratamiento con CBZ, (25 mg/kg) 30 minutos antes (barras negras). Se aprecia la ausencia de sueño MOR, Vigilia (VIG), sueño de ondas lentas (SOL) y sueño MOR (MOR). (n=10, media ± std, *p≤0.01, **p≤0.001).

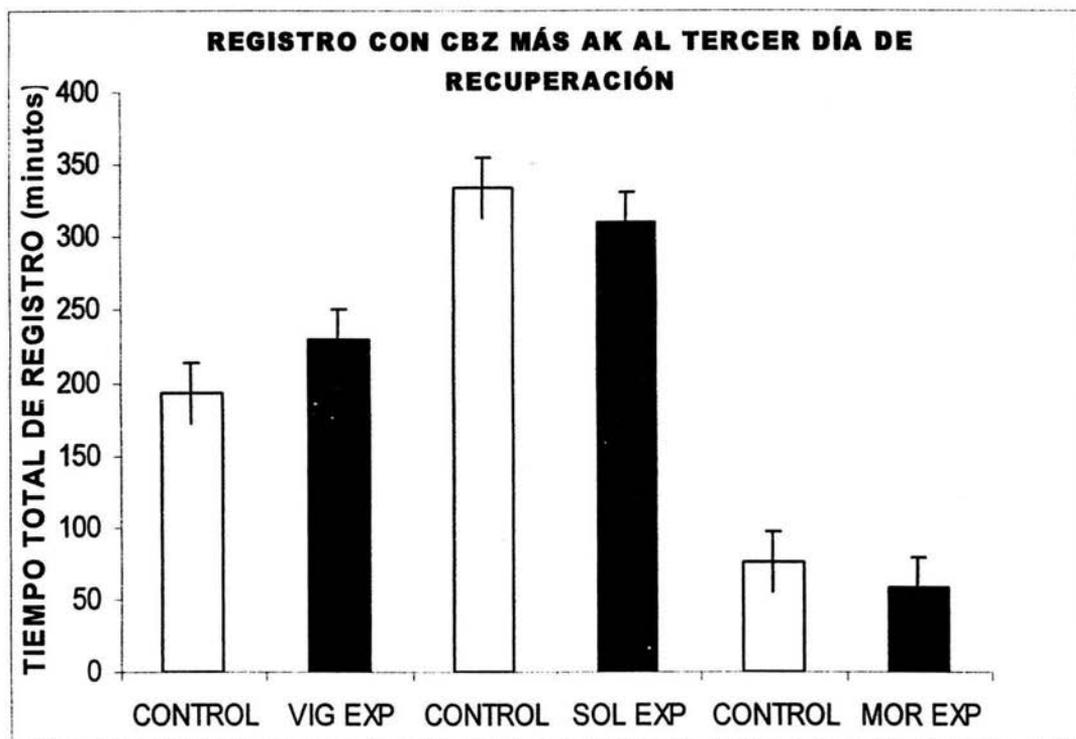


Fig. 19 Se muestran 10 horas de registro Control (Barras blancas) y 10 horas de registro después de la administración de AK con pretratamiento con CBZ (25 mg/kg) 30 minutos antes (barras negras). Vigilia (VIG), sueño de ondas lentas (SOL) y sueño MOR (n=10, media \pm std, *p \leq 0.01, **p \leq 0.001).

HALLAZGOS NEUROANATÓMICOS

La revisión morfológica se realizó diez días después del tratamiento con AK, siguiendo alguna de las siguientes estrategias: a) grupo I; aplicación de una inyección subcutánea de solución salina (controles); b) grupo II; inyección subcutánea de AK (10 mg/kg); c) grupo III; administración por sonda intra-gástrica de CBZ (25mg/kg de peso) 30 minutos antes de la inyección subcutánea de AK (10 mg/kg,) según Sperk, 1994 y Leepik, 1998, d) grupo IV; administración única por sonda intra-gástrica de CBZ (25mg/kg de peso).

En el hipocampo y cerebelo de los animales control se encontró una histología normal (Fig. 20, 21y 22). En el caso de los animales tratados solo con CBZ los resultados fueron semejantes (González-Maciel y col., 2000; 2001). En el hipocampo de los animales tratados con AK, se encontró la lesión selectiva ya descrita para CA1, CA3 y giro del cíngulo (De Lanerolle y col., 1989). Consiste en necrosis de grupos de neuronas piramidales, después de la remoción de las neuronas que mueren, esta aparece como una discontinuidad en la lámina de neuronas piramidales en CA1 (Fig. 20).

La población neuronal afectada por el AK en el cerebelo fue la de células de Purkinje. En todos los lóbulos encontramos necrosis de una gran cantidad de estas células o desaparición de las mismas (Fig. 21).

En el hipocampo y cerebelo de los animales tratados con CBZ, seguido de la aplicación de AK, se encontró la lesión ya descrita en CA1, sin embargo cabe señalar que ésta es de mayor extensión que la encontrada en los animales con solo AK (Fig. 15) (González-Maciel y col., 2000; 2001). En este grupo se encontraron además, zonas de extensa lesión, que incluyen muerte de grandes poblaciones de neuronas, daño en el neuropilo o ambos efectos en giro dentado, tálamo medio y corteza piriforme (Fig. 22).

Las regiones analizadas fueron:

Hipocampo anterior

Tálamo medio

Corteza piriforme

Cerebelo

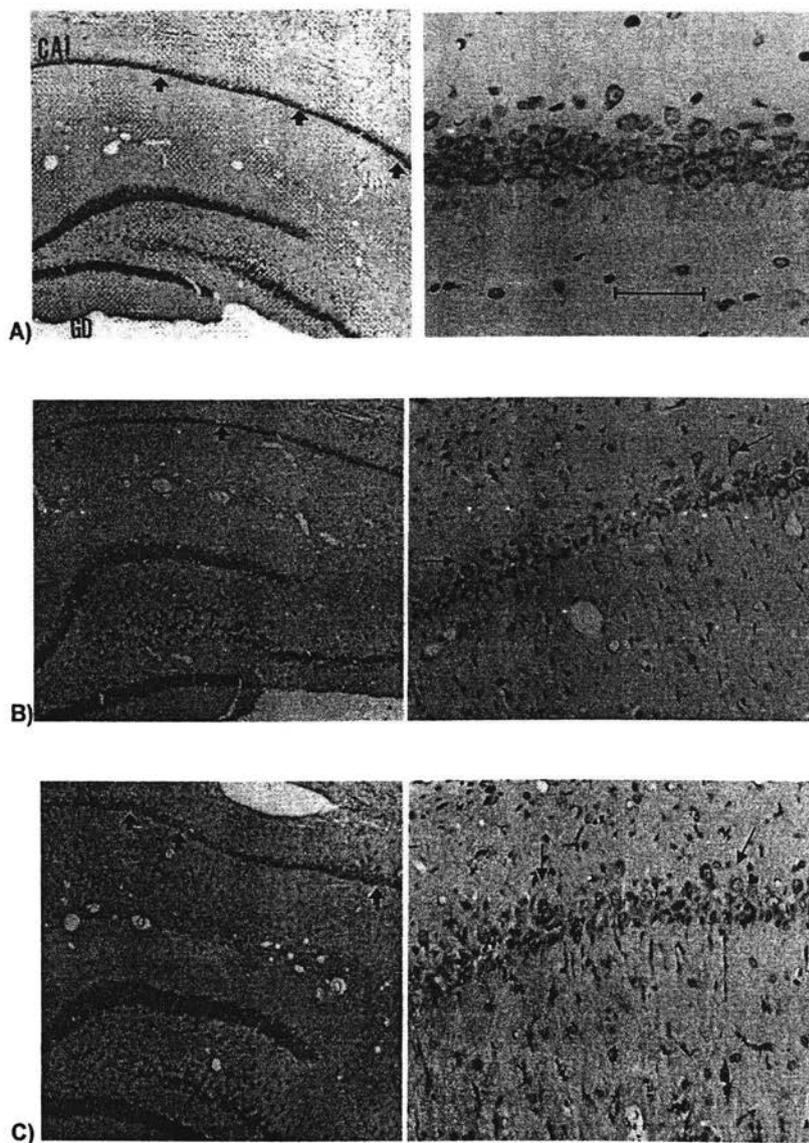


Fig. 20 Fotografía de cortes de hipocampo de rata. A) Control; B) Tratadas con AK y C) Tratadas con CBZ-AK. En las fotografías de la izquierda se señala con flechas las zonas de CA1 donde se encontró desaparición de neuronas piramidales en respuesta a la aplicación del AK o del antiepiléptico y AK. A la derecha se muestra a mayor aumento una de las zonas dañadas.

Mientras que en los animales controles las neuronas piramidales forman una banda definida, en la zona correspondiente de los animales experimentales se aprecian algunas neuronas piramidales (flechas) y abundan algunos restos de neuronas (puntos sobre teñidos). De igual manera por arriba y por debajo de lo que queda de la banda de células piramidales se aprecian restos hipercromáticos alargados, pertenecientes a los procesos neuronales.

Tinción Violeta de cresilo. Escala de la barra; lado izquierdo = 47 μ m; lado derecho = 10 μ m.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

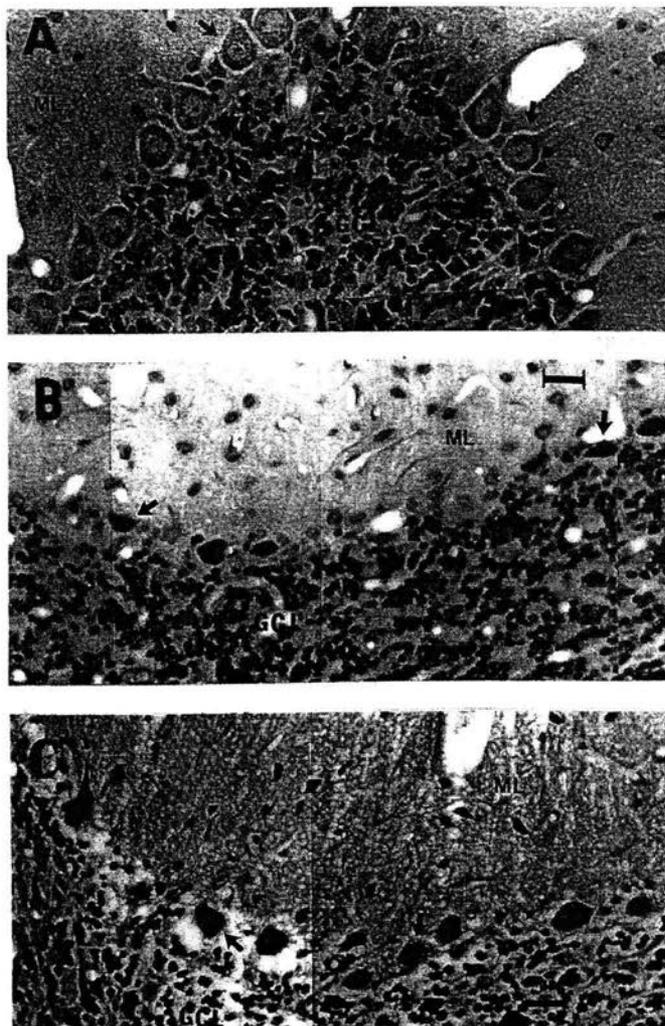
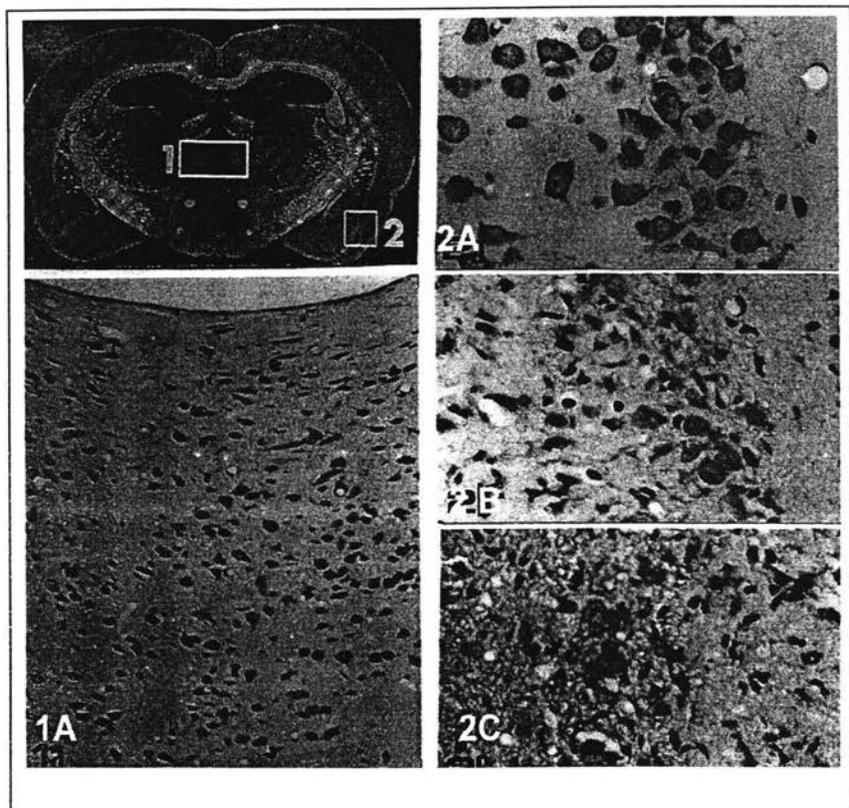


Fig. 21 Cortes sagitales de cerebelo, teñidos con Violeta de cresilo. **A)** Corte de un animal sin tratamiento. **B)** Corresponde a un animal tratado con AK. En la zona de células de Purkinje sólo se encuentran algunos restos de éstas células (flechas). **C)** En animales tratados con CBZ previo al AK, se encontró además de restos de células de Purkinje necróticas, extensas zonas con daño en el neuropilo de la capa molecular (ML) y granular. Escala de la Barra= 5 μ m.



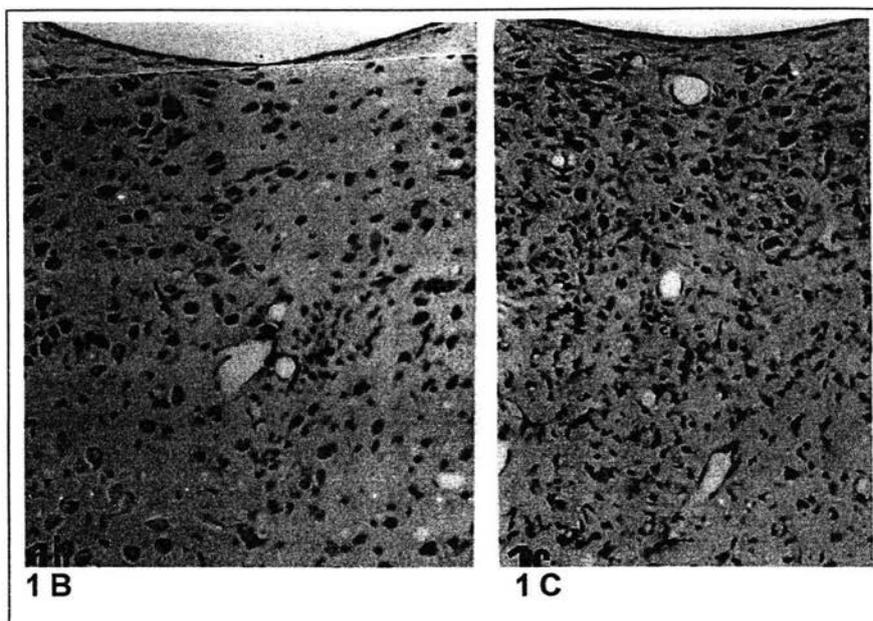


Fig. 22 Cortes sagitales de la región correspondiente a los núcleos del tálamo (1) y de la corteza piriforme (2). Las letras A, B y C muestran los diferentes tratamientos: Control (A), tratadas con AK (B) y con CBZ-AK (C).

En los núcleos del tálamo y corteza piriforme de ratas tratadas con AK se encontraron pequeñas zonas (recuadro-núcleo talámico paraventricular -PV) con restos sobre teñidos correspondientes a neuronas que murieron. En animales tratados con CBZ-AK, el daño fue extenso. Además de verse afectado el PV, se dañó también núcleo talámico intermediodorsal, lateral, central y centro medial. En corteza piriforme además de la muerte de neuronas encontrada en animales tratados solo con AK, en los animales tratados con CBZ-AK se encontró gran destrucción del neuropilo.

Escala de la barra= 10 μ m.

RESULTADOS DE LA FARMACOCINÉTICA DE LA CBZ

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDICIÓN DE LA CBZ

Para evaluar la linealidad del método se analizaron curvas de calibración dentro de un rango de concentraciones esperadas, de acuerdo con pruebas piloto.

El rango de concentración de la curva de calibración fue de 0.22 a 5 $\mu\text{l/ml}$. Se escogieron cinco puntos entre estas concentraciones, y se realizaron cinco determinaciones para cada punto. La cuantificación se llevó a cabo por el método del estándar interno. Con este método se midió la relación de alturas entre la CBZ y el estándar interno.

Para su preparación se partió de soluciones madre de CBZ a una concentración de 1 mg/ml disuelta en metanol (grado cromatográfico). Partiendo de ellas, las soluciones requeridas para la curva de calibración se prepararon por medio de diluciones con fase móvil, en el rango antes mencionado.

CURVAS DE CALIBRACIÓN

Para obtener la calibración se utilizó una preparación de 100 μl de sangre de rata, libre de fármaco con 60 $\mu\text{l/ml}$ del estándar interno para cada concentración de 0.22, .50, 1, 2, y 5 $\mu\text{l/ml}$ de CBZ.

La figura 23 muestra la relación de alturas (altura del pico de CBZ/altura del estándar interno) como función de la concentración sanguínea de la CBZ, así como la ecuación de la recta que ajusta los datos experimentales, observándose que existió una buena correlación.

En la tabla 2 se observa que el coeficiente de variación (C.V.) es menor de un 9.40%. Esto indica que el método es adecuado para la determinación de CBZ en sangre total de rata. El límite de cuantificación del método fue de 0.22 $\mu\text{l/ml}$.

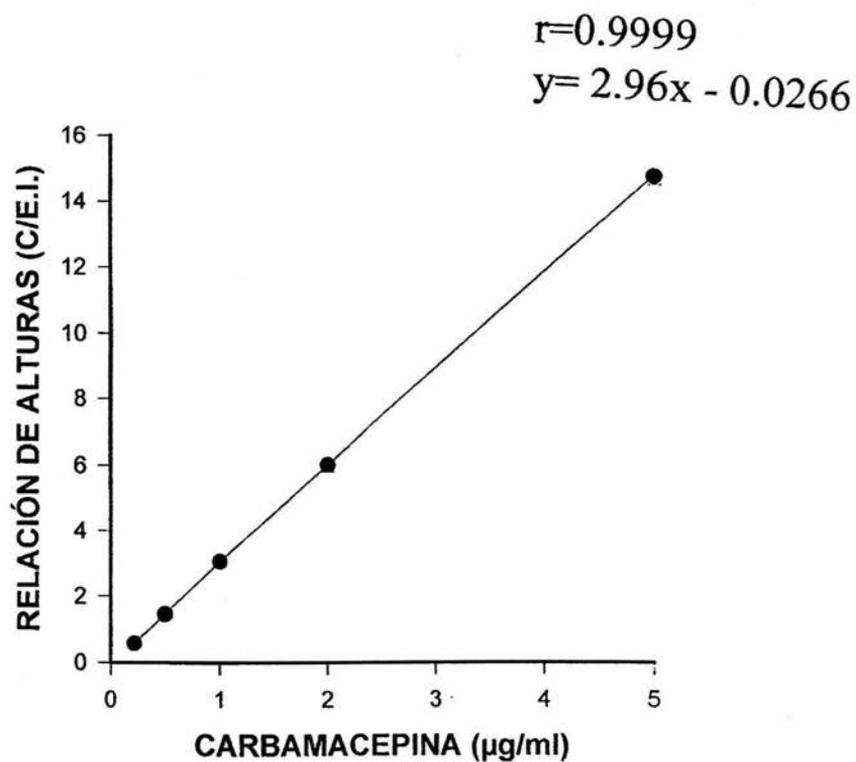


Fig 23. Curva de calibración de la CBZ. C/E.I. es el coeficiente de altura de los picos cromatográficos de la CBZ sobre el estándar interno. Cada punto es el promedio \pm error estándar de 8 determinaciones.

TABLA 1. EXACTITUD Y PRECISIÓN DEL MÉTODO.

CONC. AÑADIDA (µg/ml)	CONC. MEDIDA (µg/ml)	EXACTITUD (%)	C.V (%)
0.22	0.20 ± 0.008	90.91	9.40
0.50	0.5026 ± 0.016	101.12	7.99
1	1.05 ± 0.033	105	7.81
2	2.04 ± 0.071	102	8.59
5	5.00 ± 0.087	100	4.28

Tabla 2. Coeficiente de variación y exactitud del método para la determinación de la CBZ en sangre total. Los datos se expresan como promedio ± error estándar

ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS DE CBZ.

Se realizó la farmacocinética de la CBZ (25 mg/Kg), en la figura 24 se pueden apreciar los promedios (\pm error estándar) de los cursos temporales de las concentraciones sanguíneas expresadas como $\mu\text{g/ml}$ en función del tiempo. Se observa que la cinética de la CBZ, sufre una caída rápida para después descender gradualmente. A partir de los cursos temporales, se obtuvieron los parámetros farmacocinéticos. Estos parámetros quedaron comprendidos por el área bajo la curva (ABC_{0-6}).

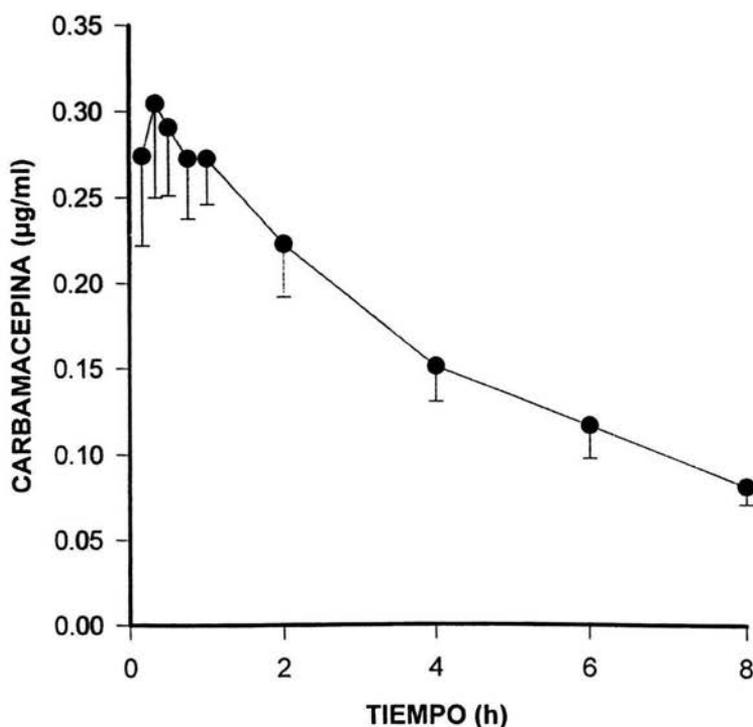


Fig 24. Cursos temporales de las concentraciones sanguíneas de CBZ administrada. Cada punto representa el promedio + error estándar de seis determinaciones

De las gráficas individuales de concentración sanguínea contra tiempo, se determinaron de manera directa la concentración máxima (C_{max}) y el tiempo en alcanzar la concentración máxima (t_{max}). El ABC_c se calculó mediante el método

trapezoidal (Rowland y Tozer, 1989) hasta el último punto de muestreo (0-6h). Los parámetros farmacocinéticos se calcularon de manera independiente conforme a Gibaldi, 1991.

EVALUACIÓN DE LAS CRISIS

Para evaluar el efecto antiepiléptico de la CBZ en el modelo experimental de epilepsia inducida por AK, se determinó primero el número de sacudidas de cabeza y cuerpo, solo con la administración de AK (10 mg/Kg), se cuantificó hora por hora durante las 10 horas del registro, alcanzando su máximo número a la tercera hora, empezando a decrecer paulatinamente hasta casi el final del registro. La CBZ tuvo un efecto antiepiléptico, mostrando la reducción en el número de sacudidas de cabeza y cuerpo, disminuyendo el máximo efecto del AK a las dos primeras horas del registro, obteniendo un decremento significativo de las crisis a la cuarta hora, hasta cesar definitivamente a las cinco horas del registro como lo muestra la figura 19. Cuando se administró la CBZ 30 min., antes del AK, se observó un comportamiento semejante al descrito, el único cambio fue el tiempo de duración de las crisis, las cuales disminuyeron totalmente a las 5 horas del registro (Fig. 25). La CBZ atenuó las crisis epilépticas.



Fig 25. En la figura se muestra el No. de sacudidas durante las 10 horas de registro. Con AK (triángulos) y con CBZ previa a la administración de AK (cuadros).

DISCUSIÓN

PATRONES DE SUEÑO

Los resultados mostraron que durante el estado agudo de la administración del AK, los patrones de sueño son fuertemente alterados en este modelo animal de epilepsia del lóbulo temporal. Se observó que los animales permanecieron en vigilia después de la administración del AK, con la aparición de los primeros síntomas de las crisis convulsivas. En tanto que el SOL y el sueño MOR fueron completamente inhibidos durante un periodo relativamente largo. Los efectos provocados por las crisis epilépticas inducidas por el AK son similares a lo que se ha descrito en trabajos previos (Benary y cols, 1979, Lothmann y Collins, 1981, Gonzalez-Maciel y cols, 2000). Estos resultados son muy similares a lo que ocurre en el humano en la epilepsia del lóbulo temporal, provocando un estatus epilpticus agudo (Nadler y cols, 1978, Sloviter, 1987).

Sabemos que el AK ejerce una acción excitadora sobre los receptores al kainato (Ferkany y cols, 1982; Köhler, 1993). Se ha observado que durante la administración aguda del AK se libera glutamato en el área del hipocampo (Lehmann y cols, 1985; Wade y cols, 1987). Un marcado decremento en la enzima (glutamato descarboxilasa) que cataliza para la formación del ácido gama amino-butírico (GABA), se ha encontrado en diferentes áreas del cerebro como; amígdala, corteza piriforme, septum lateral y el hipocampo. Estas observaciones apoyan la hipótesis de que la epilepsia puede estar relacionada con un mal funcionamiento del sistema gabaérgico (Houser, 1991). Esto puede explicar en parte los efectos negativos sobre el sueño, observados durante las descargas epilépticas inducidas por la administración del AK, ya que es sabido que el GABA juega un papel importante en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Particularmente la estimulación del receptor al

GABA tipo "A" incrementa el tiempo empleado en el sueño (Mendelson y Monti, 1993).

Aunque la desorganización del sueño puede relacionarse a la incidencia de las crisis epilépticas, el origen de esos cambios aún no está claro.

Las anomalías más importantes del sueño ocurren durante las crisis generalizadas. Sin embargo persisten alteraciones del sueño durante varios días aún después de que no existen crisis convulsivas.

Es interesante desde el punto de vista experimental el papel que juega el núcleo Locus coeruleus, estructura relacionada con la regulación del sueño MOR, cuando es destruido, causa disminución en esta fase del sueño junto con una susceptibilidad al incremento de la actividad de las crisis epilépticas. Es probable que el AK pueda causar una transitoria inhibición del locus coeruleus, ya que se ha observado una relación entre las estructuras hipocámpicas y éste, además de un posible papel de modulador del hipocampo durante el sueño MOR (Arias y cols, 1970]. Estos argumentos favorecen la relación que existe entre una incidencia de las crisis generalizadas y la disminución del sueño MOR.

La inhibición de ambas fases del sueño (SOL y MOR) después de la administración del AK se ha asociado a la repetición del complejo de ataques parciales o secundarios a las crisis generalizadas desencadenadas por el AK. Sin embargo la reducción del sueño MOR puede ser facilitada tanto por la recurrencia de las crisis así como las crisis generalizadas. Aunque la disminución del sueño MOR y el incremento de la vigilia, se puede explicar como un disturbio en los procesos fisiológicos, desencadenados por ambos tipos de crisis.

Como se describió previamente, la organización nictemeral del sueño y la vigilia juega un papel importante en la incidencia de las crisis epilépticas (Bazil y cols,

2000, Mcnamara y Shin, 1994, Malow y cols, 1999). Se ha mostrado que los patrones de sueño responden de manera diferente a los diferentes tipos de crisis (Samaritano y cols, 1991, Roberts, 1998). El sueño facilita la epilepsia del lóbulo temporal, por lo tanto la epilepsia originada en ésta región, es considerada como una epilepsia del sueño nocturno (Malow y cols, 1999, Samaritano y cols, 1991, Crespel y cols, 2000).

Por otro lado, a pesar de los numerosos estudios que relacionan las crisis epilépticas al sueño, hay pocos reportes que describen la posible influencia ejercida por las crisis epilépticas sobre la organización del sueño. En el modelo de epilepsia del lóbulo temporal que implementamos, observamos una desorganización significativa del ciclo sueño-vigilia, involucrando tanto a la fase de SOL como al sueño MOR. Estos hallazgos concuerdan parcialmente con los obtenidos de registros de sueño llevados a cabo en pacientes, inmediatamente después de una crisis generalizada, donde se observa una disminución transitoria de sueño MOR (Bazil y cols, 2000; Bazil y Walczak, 1998). Una disminución similar ha sido descrita en modelos experimentales de epilepsia del lóbulo temporal, donde la actividad epiléptica fue provocada por estimulación eléctrica aplicada sobre la amígdala o el hipocampo (Coenen, 1995, Schliebs y cols, 1989; Fernández-Guardiola, 1992). Se ha observado que la disminución en la cantidad de sueño MOR persistió, aunque después de la estimulación eléctrica cesó (Degen R y Rodin, 1991; Frank y cols, 1997). Efectos similares los observamos en nuestro modelo experimental, donde la inhibición del sueño persistió algún tiempo, aunque después, la conducta y las alteraciones electrográficas provocadas por las crisis epilépticas desaparecieron. Esto sugiere que la inhibición del sueño y un largo periodo de insomnio, no es solo debido a los efectos físicos de la estimulación eléctrica o a una inmediata acción

farmacológica, inducida por la administración del AK, probablemente se deba también a una acción ejercida sobre los mecanismos neurofisiológicos que regulan al ciclo sueño-vigilia, como es la Formación Reticular Pontina. Es interesante, también desde el punto de vista fisiopatológico ver que la reducción del sueño inducido por las crisis epilépticas, no produce un incremento compensatorio, como normalmente se observa cuando se priva de sueño por otros métodos (Degen R y Rodin, 1991).

Nuestros resultados mostraron que las crisis epilépticas inducen una total inhibición del sueño, tanto del SOL como del sueño MOR, el primer día experimental después de la aplicación solo del ácido kainico. Este efecto fue parcialmente revertido cuando a otro grupo de animales se les administró primero carbamazepina seguida de la aplicación del convulsivante, ya que los animales solo presentaron SOL.

En relación a lo anterior sabemos que varios neurotransmisores están relacionados con el disparo y mantenimiento del sueño. Por diversos estudios experimentales se sabe que la 5-HT esta involucrada en la regulación de funciones como la memoria, el aprendizaje y el sueño (Trulson y cols 1981; Lydic y cols, 1987, Steriade y McCarley, 1990), datos neurofisiológicos han mostrado que las células del Núcleo rafe dorsal (NRD) descargan al máximo durante la vigilia y disminuyen durante el sueño, alcanzando valores mínimos durante el sueño MOR (Sakai, 1984). Se ha relacionado al rafe con el establecimiento del SOL (Cespuglio 1990; Sanfo y cols, 1994), el sueño MOR depende de la actividad serotoninérgica presente en la vigilia que promueve la formación de péptidos hipotalámicos hipofisarios donde se integran los mecanismos del sueño MOR. En lo que respecta al sueño MOR cabe señalar que, en la región pontina del tallo cerebral, se localizan varios núcleos

celulares que generan los diferentes componentes del sueño MOR, como el locus coeruleus principal productor de noradrenalina a nivel pontino, la cual provoca hiperpolarización de las motoneuronas y con ello la inhibición del tono muscular (Sakai, 1991). De acuerdo con el modelo de interacción recíproca de Hobson y McCarley (1974 y 1975), la ocurrencia de los estados de sueño es controlada por dos grupos de neuronas, que se encuentran en la formación reticular del tallo cerebral; neuronas REM-ON colinérgicas, localizadas en núcleos Tegmentales, el Tegmental Laterodorsal (TLD) y el Pedúnculo Pontino (TPP) y las REM-OFF, neuronas monoaminérgicas que incluyen a la 5-HT y la NA, la primera proviene principalmente del rafe dorsal y la segunda del Locus Coeruleus (Sakai, 1991; Majumdar y Malik 1991). Apoyando esta hipótesis se sabe que la acetilcolina (Ach), juega un papel primordial en la generación del sueño MOR. Se ha mostrado que las principales estructuras encargadas del disparo y mantenimiento del MOR se encuentran en los núcleos Tegmentales colinérgicos (TLD y TPP), (Koyama y Sakai, 1992).

Estos antecedentes apoyan los resultados del presente trabajo ya que las alteraciones que se han observado en estos neurotransmisores ya se han reportado por otros autores, donde han encontrado que la microinyección de AK en el núcleo rafe dorsal (NRD), causa insomnio inmediatamente. Estos resultados indican que la modulación del NRD en el sueño es parcialmente mediada por la proyección serotoninérgica del NRD sobre la amígdala basolateral. (Gao y cols, 2002). Estos decrementos de 5-HT, han sido ampliamente descritos después de la administración del AK tanto sistémica como localmente, (Heggli y cols, 1981; Kleinrok y Turski, 1980; Sperk y cols, 1985; Sperk, 1994), además se ha reportado un incremento en

el recambio de 5HT así como de la DA, aumentando la concentración del metabolito 5-HIAA y HVA respectivamente, después de la administración de AK, (Anderson y cols, 1980; Braszko y cols, 1983; Sperk., 1994; Osorio y cols, 2003), Aunque se ha reportado un marcado decremento de NA después de la administración de AK (Byrska y cols, 1980; Sperk y cols, 1983; Sperk, 1993). Por lo que se refiere a la ACh se ha reportado una disminución en la actividad de la acetilcolinesterasa (Heggli y cols, 1981) y una reducción de la captura de alta afinidad de la colina (Schliebs y cols, 1989). Esto explicaría lo encontrado por nosotros en lo que respecta a las alteraciones tanto del SOL, así como del sueño MOR.

Sin embargo al administrar la CBZ antes del AK, encontramos una recuperación, primero del SOL y un día después del sueño MOR, reportes de administración de diferentes anticonvulsivantes en animales a los cuales se les había provocado crisis convulsivas, entre ellos CBZ, encontraron un incremento significativo en el contenido de todas las monoaminas y sus metabolitos (Kosacheva y cols, 1998). Por otro lado se ha reportado que el ácido valpróico y la carbamazepina incrementaron las concentraciones de dopamina extracelular en corteza media prefrontal en rata. (Ichiwa y Meltzer, 1999). Se ha observado un efecto analgésico causado por la administración de CBZ el cual ha sido atribuido al incremento en las concentraciones de serotonina cerebral que está involucrada en el control de la transmisión del dolor (Gao y cols, 2002), En otro estudio realizado en ratas encontraron que después de la exposición a CBZ, las concentraciones de NA, se elevaron en corteza motora y el cerebelo, mientras que las concentraciones de DA disminuyeron en dichas regiones; sin embargo, las concentraciones de DA se incrementaron en el hipocampo y las concentraciones de 5-HT se incrementó en el tallo cerebral. Estos resultados sugieren que la carbamazepina puede mediar el efecto anticonvulsivante

por alteraciones diferenciales en las concentraciones de monoaminas en regiones discretas del cerebro (Baf y cols, 1994). También se ha reportado un aumento de la 5-HT dosis-dependiente de la CBZ (Olpe y cols, 1983; Dailey y cols, 1997; Kawata y cols, 2001) En lo referente al 5-HTP, la carbamazepina fue el único anticonvulsivante que produjo una activación dosis-dependiente en las células ramificadas del locus coeruleus. (Anderson y cols, 1990; Elphick y cols, 1990), en ratas GEPR-3. La CBZ y la antiepilépsirina fueron efectivos ya, que favorecen la transmisión serotoninérgica, la cual puede contribuir al efecto anticonvulsivante de estos fármacos (Yan y cols, 1992). Otros autores encuentran un incremento en los niveles de ACh en el cerebro de ratas a las cuales se les han administrado dosis terapéuticas de CBZ, así como incremento del recambio de 5-HT y DA en el hipocampo, los autores concluyen en que estos incrementos producen un mejoramiento en la memoria y el aprendizaje (Sudha y cols, 1995).

Es evidente que la CBZ favorece la recuperación de los neurotransmisores relacionados con el ciclo sueño-vigilia, lo cual nos lleva a resaltar la importancia que existe entre las estructuras reportadas como responsables del sueño con las estructuras relacionadas con el sistema límbico.

Se han descrito conexiones anatómicas para la interacción del sistema límbico con los núcleos pontinos responsables del sueño MOR de los potenciales PGO. También hay conexiones para su interacción con estructuras talámicas que participan en la propagación de los potenciales PGO (Simon y cols, 1973; Calvo y cols, 1987; Bernard y cols, 1993).

Es importante señalar que las estructuras límbicas como el giro del cíngulo recibe fibras provenientes de la región del locus coeruleus y por otra parte, recibe proyecciones del núcleo anterior ventral del tálamo, estructura donde se han

registrado potenciales relacionados a los potenciales PGO y la amígdala, además de recibir proyecciones provenientes del cuerpo geniculado lateral tiene abundantes conexiones monosinápticas y recíprocas con los núcleos responsables del sueño MOR y principalmente con los núcleos generadores de los potenciales PGO (Calvo y cols, 1988; Calvo 1993). Particularmente el núcleo amigdalino central proyecta fibras a través del haz amigdalofugal ventral hacia el núcleo tegmental laterodorsal, el locus subcoeruleus, y el locus coeruleus alfa, a su vez estos núcleos envían recíprocamente fibras hacia la amígdala (Sakai, 1990).

En lo referente al hipocampo, este se distingue de otras estructuras límbicas por presentar una actividad EEG theta (de 5 a 7 ciclos por segundo), que ocurre de manera ininterrumpida durante el sueño MOR.

Además, la estimulación eléctrica amigdalina aumenta la magnitud de los movimientos oculares del sueño MOR. La lesión electrolítica de la amígdala provoca, contrariamente, la disminución del número de potenciales PGO. La propagación de los potenciales PGO hacia la amígdala y la influencia facilitatoria amigdalina sobre estos potenciales, sugieren la existencia de una interacción excitatoria entre la amígdala y los núcleos pontinos generadores de los potenciales PGO. Las conexiones recíprocas entre la amígdala y la región Peribraqueal (PBL), apoyan esta idea. Esto indica que la amígdala forma parte de las redes neuronales que facilitan la ocurrencia de los potenciales PGO y por lo tanto la inducción del sueño MOR (Calvo y cols, 1992).

Desde el punto de vista neuroquímico también existe una relación entre la amígdala y los mecanismos inductores del sueño MOR. La región PBL contiene abundantes neuronas colinérgicas y envía fibras hacia la amígdala, la cual también contiene células colinérgicas en su núcleo central. La activación colinérgica tanto de

la región PBL, como de la amígdala, provocan un aumento significativo del sueño MOR durante varios días. (Calvo, 1991; Datta y cols 1992).

Esto reafirma el papel facilitatorio que ejerce la amígdala sobre los mecanismos de inducción del sueño MOR y señala que esta facilitación la ejerce a través de un mecanismo colinérgico. La interacción de la amígdala con los núcleos pontinos sugiere que esta estructura también modula los cambios vegetativos del sueño MOR. También es evidente que la amígdala forma parte de los circuitos neuronales que modulan la aparición de los potenciales PGO y del sueño MOR (Ruch-Monachon y cols, 1976; Sanford y cols, 1994). Por lo que al sobreéxitar esta área en nuestro modelo, observamos alteraciones del sueño.

Por otro lado y en relación al flujo sanguíneo cerebral se sabe que durante el inicio de un ataque convulsivo existe una rápida disminución de la presión sanguínea sistémica, que a su vez produce una reducción en la circulación vascular cerebral, que no es compensada completamente por aumento en el llenado sanguíneo de los vasos por dilatación arterial. Este evento es transitorio y rápido e inmediatamente después, se manifiesta un aumento marcado en la presión sanguínea, con aumento en la circulación cerebral, lo cual trae como consecuencia efectos hemodinámicos y cambios metabólicos condicionados por la dificultad de llegada de oxígeno al tejido cerebral, con estados subsecuentes de hipoxia (Fera y col. 1997; Beghi, 1995; Niedermeyer, 1987).

Se han realizado varios estudios que dieron lugar a la descripción de un patrón de daño en esta estructura, el cual se refirió entonces como esclerosis hipocámpica (De Lanerolle y col., 1989). En relación a lo anterior, en nuestros resultados encontramos daño en muchas de las regiones cerebrales que se lesionan por crisis generalizadas. Entre las regiones cerebrales recurrentemente dañadas se

encuentran además del hipocampo, la Corteza piriforme, el Cerebelo, la Corteza cerebral, el Tálamo, Cuerpo estriado, en uno o ambos hemisferios cerebrales, lo que concuerda con lo reportado en tejido de humanos (Feria y col. 1997).

En animales en los que se ha inducido experimentalmente epilepsia crónica, se ha determinado que el bloqueo completo de la inhibición produce convulsiones, por lo que se ha sugerido que el sistema GABAérgico es lábil y especialmente susceptible a alterarse. Experimentalmente se ha demostrado que las neuronas GABAérgicas son sensibles a la hipoxia y que si ésta persiste, se inician cambios degenerativos y lisis celular (Woodbury, 1980; Lloyd, 1984; Ribak, 1983; Sloviter, 1981; 1983).

Nuestros hallazgos morfológicos corroboraron la presencia de lesión característica en hipocampo, descrita ampliamente (Ben-Ari, 1980; Sperk, 1985; Collins, 1983; Hajnal y cols, 1997; Akaine y cols, 2001). Se ha reportado que las ratas tratadas con AK experimentan denervación de células inhibitorias acompañada por arborización colateral de fibras musgosas conduciendo a la formación de sinapsis adicionales sobre otras células granulares dentadas, lo que constituye un nuevo circuito excitatorio recurrente (Dudek, 1994). En el presente trabajo pudimos constatar cambios histopatológicos producidos por el AK que involucran también pérdida masiva de células nerviosas, proliferación glial y necrosis de los tejidos límbicos descritos ya por Sloviter (1994). Estos eventos han sido clasificados como "daño cerebral relacionado con la crisis", y más correlacionados con la severidad de los cambios conductuales que con la dosis del AK administrado. Basándonos en la literatura podemos decir que estos cambios son inducidos por acción de mecanismos secundarios que contribuyen a la patogénesis del daño cerebral epiléptico irreversible (Zaczek y cols, 1978; Sperk, 1985).

Por otro lado, es difícil explicar el aumento del daño encontrado en los animales que recibieron el antiepiléptico (CBZ) previo a la inyección del AK, para ello se podría proponer la existencia de un sinergismo entre la CBZ y el AK, sin embargo es necesario dilucidar totalmente los mecanismos de acción del AK y la CBZ.

Se ha descrito en la literatura que la carbamazepina presenta un efecto protector, hay evidencia en modelos animales de que los bloqueadores de canales de sodio previenen daño neuronal causado por isquemia cerebral global y focal (Taylor, 1996). Estudios in vivo han demostrado que algunos fármacos antiepilépticos, incluyendo la CBZ, reducen el daño cerebral después de isquemia focal en roedores (Fern y cols, 1993; Rataud y cols, 1994; Minato y cols, 1997). También se ha reportado que la CBZ protege cultivos corticales de muerte celular inducida por veratridina a una concentración de 10 μM (Lakies y cols, 1995). Además, estos autores sugieren que otros mecanismos, como el bloqueo de canales de sodio pueden estar involucrados en el efecto neuroprotector. Por otro lado, estudios recientes han mostrado que la CBZ, además de presentar un efecto tóxico, no ejerce un efecto protector del todo. Ambrosio y cols (2000), encontraron que la presencia de CBZ durante y después del daño isquémico no protegió a las neuronas hipocampales, estos resultados muestran que la CBZ puede ser tóxica en cultivos de neuronas hipocampales. Estos autores reportaron también apoptosis en estas neuronas (Ambrósio y cols 2000). En otros estudios se reporta neurotoxicidad de la CBZ cuando se administró en cultivos de células granulares de cerebelo, sobre las cuales inducía apoptosis (Gao and Chiang, 1992; Gao y cols, 1995; Nonaka y cols, 1998). Barcia y Cols (1999), en un modelo de Kindling amigdalino, al cual administraron varios antiepilépticos (iv), encontraron efectos neurotóxicos de la CBZ. En experimentos de cultivos de astrositos también se encontró efecto neurotóxico de

la CBZ (Pavone y Cardile., 1999). Estos trabajos nos sirven de base para explicar el efecto que nosotros encontramos, ya que la combinación del AK más la CBZ sólo se explica por un efecto sinérgico entre ambos.

Por lo tanto y dada la gravedad que representaría que un antiepiléptico determinado, pueda atenuar la frecuencia e intensidad de los ataques, pero que sin embargo por alguna acción "desconocida" contribuya al aumento de daño neuronal, es importante que en la investigación de nuevas sustancias antiepilépticas se considere también que éstas no deben aumentar el daño que probablemente existe por las crisis previas.

La CBZ sugiere un efecto restablecedor, ya que vemos como se reduce el número de crisis a lo largo del registro, además de una recuperación parcial del sueño. La combinación de los fármacos parece facilitar los efectos nocivos del kainato sobre el sistema neuronal, estos resultados nos orientan sobre una posible alteración en el metabolismo de la CBZ, que facilita aún más el efecto citotóxico sobre el mecanismo neuronal, es necesario evaluar en este mismo sentido, la acción de los anticonvulsivantes, siguiendo la misma estrategia o implementando nuevas. Sabemos que la CBZ actúa a nivel de los canales de sodio sensibles al voltaje en la membrana presináptica de las neuronas glutamatérgicas, pero actualmente se sabe que el AK tiene receptores no solo en la membrana postsináptica de las neuronas glutamatérgicas sino que también en la membrana presináptica de las neuronas GABAérgicas a nivel del Hipocampo (Lerma y cols, 2001. Rodríguez y cols, 2000). Encontraron que en las interneuronas de hipocampo coexisten dos poblaciones de receptores de kainato con sistemas de señalización diferentes. Esto podría explicar el aumento del daño neuronal. Sin embargo no descartamos el posible papel que juega el 5-HT como posible efector exitotóxico del AK en el cerebro.

CONCLUSIÓN.

- 1.- Existe una correlación entre la farmacocinética de la CBZ y la farmacodinamia (número de crisis).
- 2.- En el presente trabajo corroboramos las lesiones neuronales provocadas por el AK muy similares a las que se han reportado ampliamente en este modelo experimental de epilepsia.
- 3.- Las crisis epilépticas inducen una total inhibición del sueño (SOL y sueño MOR)
- 4.- La administración simultánea de CBZ y AK presenta un sinergismo que provoca una potencialización del daño a nivel neuronal en el sistema límbico.
- 5.- La administración de CBZ disminuye la severidad de las crisis convulsivas favoreciendo la recuperación del SOL, aunque la fase de sueño MOR permanece inhibida, por lo que se observa una recuperación parcial del sueño.
- 6.- No se observó efecto de rebote compensatorio de sueño MOR como se presenta cuando se inhibe esta fase de sueño por otros modelos.
- 7.- La disminución del sueño MOR así como el incremento de la vigilia se puede explicar como un disturbio en los procesos fisiológicos desencadenados por las crisis recurrentes, así como por las crisis generalizadas.
- 8.- El daño a nivel neuronal se podría explicar por un efecto sinérgico del AK en combinación con la CBZ, que provoca un incremento citotóxico en algunas áreas del cerebro.
- 9.- El conocer si los desórdenes en el sueño son provocados por los eventos repetitivos derivados de las crisis epilépticas ó si éstas son consecuencia del proceso de fragmentación o del empobrecimiento de la calidad del sueño, es importante para dilucidar los mecanismos fisiológicos y de tratamiento de éste y probablemente de otros problemas clínicos que están directa o indirectamente relacionados con los fenómenos que ocurren durante el sueño.

REFERENCIAS

1. Ajmone-Marsan C. A Manual Experimental Model of Epilepsy, Raven, N.Y., 1972, pp. 147-172.
2. Aizenman, E., Lipton, S. A., y Loring, S. A. (1989). Selective modulation of NMDA responses by reduction and oxidation. *Neuron* 2: 1257-1263.
3. Ambrosio, A., Silva A, P., Araujo, I., Malva J., O., Soares-da-Silva, P. Catrvalho, A. P, y Catrvalho, C .M., (2000). Neurotoxic/neuroprotective profile of carbamazepine, oxcarbazepine and two new putative antiepileptic drugs, BIA 2-093 and BIA 2-024. *Europ. J. of Pharmacol.* 406: 191-201.
4. American Sleep Disorders Association, (1990). The international classification of sleep disorders Diagnostic and Coding Manual. Ed. Allen Press Inc. Kansas, USA.
5. Anderson, K., Schwartz, R. y Fuxe, K. (1980). Compensatory bilateral changes in dopamine turnover alter striatal kainate lesion .*Nature*, 283, 94-96.
6. Andersen P., Sundberg, S.H., Sveen, O. y Wigstrom, G (1977) *Nature* (London), 266, 736-737.
7. Ascher, P., y Nowak, L. (1988). The role of divalent cations in the N-methyl-Daspartate responses of mouse central neurones in culture. *J. Physiol.* 399: 247-266.
8. Arias LP, Baldy-Moulinier M, Flandre C, Tounigant JC., y Pas-souant P: *C R Soc Biol (Paris)* 164: 2357 (1970).
9. Ayala-Guerrero F., Vargas L., Romero R. M., Reynoso-Robles R., y González-Maciel A., (2001) Effect of oxcarbazepine on kainic acid-induced seizure. *Proc. West Pharmacol.* 44: 173-175.

10. Baf MH, Subhash MN, Lakshmana KM, y Rao BS. (1994). Alterations in monoamine levels in discrete regions of rat brain after chronic administration of carbamazepine. *Neurochem Res.*;19(9):1139-43.
11. Barcia, J., A., Rubio, P., Alos, M., Serralta, A., y Belda V., (1999). Anticonvulsant and neurotoxic effects of intracerebroventricular injection of phenytoin, phenobarbital and carbamazepine in an amygdala-kindling model of epilepsy in the rat. *Epilepsy Res.* 33 (2-3): 159-167.
12. Bazil C. W., y Walczak T. S. (1998). Effects of sleep and sleep stage on epileptic and nonepileptic seizures. *Epilepsia* 38: 69.
13. Bazil C. W., Castro L. H., y Walczak T.S. (2000). Reduction of rapid eye movement sleep by diurnal and nocturnal seizures in temporal lobe epilepsy. *Arch Neurol*: 57:363-8.
14. Beghi, E., y Perucca, E. (1995). The Mangement of epilepsy in the 1990s. *Drug.* 49 (5):680-694.
15. Ben-Ari, Y. (1980). Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: Mechanism and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neurosci.* 14:375-403.
16. Ben-Ari Y., Tremblay E., Ottersen O. P., y Naquet R., (1979). Evidence suggesting secondary epileptogenic lesions after kainic acid: pre-treatment with diazepam reduces distant but not local damage. *Brain Res.*165: 362- 365.
17. Bennett, J. A., y Dingledine, R. (1995). Topology profile for a glutamate receptor: three transmembrane domains and a channel-lining reentrant membrane loop. *Neuron* 14: 373-384.
18. Benveniste, H., Drejer, J. Schousboe, A., y Diemer N. H. (1984). Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J. Neurochem.* 43: 1369-1374.

19. Bernard, A., y Khrestchatsky, M. (1994). Assessing the extent of RNA editing in the TMII regions of GluR5 and GluR6 kainate receptors during the rat brain development. *J. Neurochem.* 62: 2057-2060.
20. Bertilsson L., y Thomson T., (1986). Clinical Pharmacokinetics and pharmacological effects of carbamazepine and carbamazepine-10-11-epoxide an update. *Clin. Pharmacokinet*; 11: 177-198.
21. Bettler, B., Boulter, J., Hermans-Borgmeyer, I., O'Shea-Greenfield, A., Deneris, E. S., Moll, C., Borgmeyer, U., Hollmann, M. y Heinemann, S. F. (1990). Cloning of a novel glutamate receptor subunit, GluR5: expression in the nervous system during development. *Neuron* 5: 583-595.
22. Billiard, M (1982). Epilepsias and the sleep wake cycle. En: *Sleep and Epilepsy*. Serman, M. B., y Passouant, P. (Eds) Academic Press. New York. Pp 269-286.
23. Borbely, A. (1993) El secreto del sueño. Ed. Siglo XXI, México, D.F.
24. Broughton RJ. (1984). Epilepsy and sleep: a synopsis and prospectus. In Degen R, Niedermayer E, eds. *Epilepsy, sleep and sleep deprivation*. Amsterdam: Elsevier, 317-356.
25. Buela-Casal y Caballo V. Patrones de sueño y diferencias individuales. En: Buela, C. Y Caballo, V. (1990). *Avances en la investigación del sueño y sus trastornos*. Ed. Siglo XXI. Barcelona, España.
26. Burnashev, N. Monyer, H., Seeburg, P. H. y Sakmann, B. (1992). Divalent ion permeability of AMPA receptor channels is dominated by the edited form of a single subunit. *Neuron* 8: 189-198.
27. Byrska, B., Reichenberg, K., Romanska, I y Vetulani, J. (1990). Behavioral and biochemical effects of intraventricular kainic acid. *Pol. J. Pharmac. Pharm.* 32, 531-538.

28. Calvo, J. M., (1992) Sueño y epilepsia experimental en Modelos experimentales de epilepsia. *Gaceta Médica de México*. 128: 455-456.
29. Campbell, A.M., y Holmes, O, *Brain Res.*, 323 (1984) 239-246.
30. Cape, E. G. y Jones B.E., (1998). Differential modulation of high frequency gamma electroencephalogram activity and sep-wake state by noradrenaline and serotonin microinjections into the region of cholinergic basal ganglia neurons. *J Neurosci*. 18, 2653-2666.
31. Cattaneo, R. (1991). Different types of messenger RNA editing. *Annu. Rev. Genet.* 25: 71-88.
32. Cavaleiro, E.A., Riche D.A. y Salle G.L.G., *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 53 (1982) 581-589.
33. Cespuglio, R., Houdouin, F., Oulerich, M El Mansari, M., y Jouvet, M. (1990). Axonal and somato-dendritic modalities of serotonin release: their involvement in sleep preparation, triggering and maintenance. *J Sleep Res.* 1, 150-156.
34. Coenen A.M., Ates N, Skarsfeldt T., y Van Luijtelaa E.L., (1995). Effects of sertindole on sleep-wake states, electroencephalogram, behavioral patterns, and epileptic activity of rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 51:353-7
35. Collins, R. C., Lothman, E. W., y Olney, J. W. (1983). Status epilepticus in the limbic system: Biochemical and pathological changes. *Advances in Neurology*. 34: 277-287.
36. Commission on Classification Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification for epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. (1989) 30: 389-399.

37. Commission on Epidemiology and Prognosis of the International League Against Epilepsy. Guidelines for epidemiology studies on epilepsy. *Epilepsia*. (1993) Apr, 34 (4): 592-596.
38. Cortesi F., Giannotti F., y Ottariano S., (1999). Sleep problems and daytime behavior in childhood idiopathic epilepsy. *Epilepsia* 1999 Nov 40:1557-65.
39. Crespel A., Coubes P., y Baldy-Molulinier M., (2000). Sleep influence on seizures and epilepsy effects on sleep in partial frontal and temporal lobe epilepsies. *Clin Neurophysiol* 2000 Sep 111 Suppl 2:S54-9.
40. Czuczwar, S.J., Frey H.H., y Loscher.W. (1985). *Eur. J. Pharmacol.*, 108, 273-280.
41. Dahlström B.E., Paalzow L.K., Segre G., y Agren A.J. (1978) Relation between morphine pharmacokinetics and analgesia. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 6: 41-53.
42. Dailey J W, Reith ME, Yan QS, Li MY, y Jobe PC. (1997). Carbamazepine increases extracellular serotonin concentration: lack of antagonism by tetrodotoxin or zero Ca²⁺. *Eur J Pharmacol.* 11; 328(2-3):153-62.
43. Dailey J W, Reith ME, Steidley KR, Milbrandt JC, y Jobe PC. (1998). Carbamazepine-induced release of serotonin from rat hippocampus in vitro. *Epilepsia.* 39(10):1054-63.
44. Dayly D. (1973). Circadian cycles and seizures. En: *Epilepsy, its phenomena in man*. Brazier, M. A. (Ed), Academic Press. New York. Pp. 215-233.
45. De Andrés y Corpas. Control del sistema nervioso central de los sistemas de vigilancia y sueño. En: Buela, C. Y Caballo, V. (1990) *Avances en la investigación del sueño y sus trastornos*. Ed. Siglo XXI. Barcelona, España.

46. DeFelipe, J. y Fariñas, I. (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog. Neurobiol.* 39: 563-607.
47. De Lanerolle N.C., Kim J. H., Robbins R. J., y Spencer D. D. (1989). Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Research* 495: 387- 395.
48. Decklerk, A. C. (1982) Diagnosis of epilepsy with the aid of sleep methodology, evaluation of 11163 cases. En *Sleep and Epilepsy*. Sterman, M. B., Shouse M. N. y Passouant, P. (Eds). Academic Press. New York. Pp. 453-560.
49. Degen R. (1980). A study of diagnostic value of waking and sleep EEGs after sleep deprivation in patients on anticonvulsant therapy. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 49: 577-584.
50. Degen R., y Degen H. E., (1991). Sleep and sleep deprivation in epileptology. *Epilepsy Res Suppl* 2:235-60.
51. Delgado, JM., y Sevillano M. (1961). Evolution of repeated hippocampal seizures in the cat. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 13, 722-7225.
52. Dichter, M. A., (1994). Emerging insights into mechanisms of epilepsy: implications for new antiepileptic drug development. *Epilepsia.* 35 (Suppl. 4): 259-265.
53. Dow, R.S., Fernández-Guardiola, A., y Manni, E (1962). The production of experimental cobalt epilepsy in rat. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 14, 399-407.

54. Drislane F., y Schomer D., (1994). Clinical implications of generalized electrographic status epilepticus. *Epilepsy Research* 19:111-121.
55. Dudek, F., E., Schweitzer, J., S., Patrylo, P., R., (1994). Mossy fiber Sprouting. *Hippocampus*. 4 (3): 259-265.
56. Egebjerg, J., y Heinemann, S. F. (1993). Ca²⁺ permeability of unedited and edited versions of the kainate selective glutamate receptor GluR6. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90: 755-759.
57. Ehlers, M. D., Zhang, S., Bernhardt, J. P., y Huganir, R.L. (1996). Inactivation of NMDA receptors by direct interaction of calmodulin with the NR1 subunit. *Cell* 84: 745-755.
58. Elphick M, Anderson SM, Hallis KF, y Graham-Smith DG. (1990). Effects of carbamazepine on 5-hydroxytryptamine function in rodents. *Psychopharmacology (Berl)*.100 (1):49-53.
59. Engel, J., (1991) Clinical Aspects of epilepsy. *Epilepsy Res.* 10:9-17.
60. Faigle y Feldman. (1982). *Antiepileptic Drugs*, 2nd de. (Woodbury, D. M.; Penry, J. K. y Pippenger, C. E. (Eds) Raven Press, New York.
61. Fariello, R.G y Golden G.T., (1987) *Neuropharmacology*, 26, 161-165.
62. Feinberg, I. (1974) Changes in sleep cycle patterns with age. *J Psychiatr Res*; 10: 283-306. En: Schetchman, V.; Harper, R. K.; Harper, R. M. (1994) Distribution of slow wave EEG activity across the night in developing infants. *Sleep*. 17 (4): 316-322.
63. Fern, R., Ramson, B., R., Stys, P. K., y Waxman, S. G., (1993). Pharmacological protection of CNS white matter during anoxia: actions of

- Phenytoin, carbamazepine and diazepam. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 266, 1549-1555.
64. Fisher R.S., (1989). *Brain Research Reviews*, 14, 245-278.
65. Feinberg, I., Fein, G., y Floyd, T. (1980) Period and amplitude analysis of noREM EEG in sleep: repeatability of results in young adults. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 48: 212-21. En: Schetchman, V.; Harper, R. K.; Harper, R. M. (1994) Distribution of slow wave EEG activity across the night in developing infants. *Sleep*. 17 (4): 316-322.
66. Fera V. A., Martínez M. D., y Rubio D. F. *Epilepsia aspectos neurológicos, médicos y sociales*. 1ª Edición, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, México, 1997.
67. Ferkany J., W., Zaczek R., y Coyle J.T., (1982). Kainic acid stimulates excitatory amino acid neurotransmitter release at presynaptic receptors. *Nature*. 298:757-9
68. Fernández-Guardiola, A. (1992). Modelos experimentales de epilepsia. *Gaceta Médica de México*. 128: 443-460.
69. Fountain N.B., y Lothman E.W., (1995). Pathophysiology of Status Epilepticus. *Journal of Clinical Neurophysiology* 12(4):326-342, 1995.
70. Frank M., G., Page J., y Helle H., C., (1997). The effects of REM sleep-inhibiting drugs in neonatal rats: evidence for a distinction between neonatal active sleep and REM sleep. *Brain Res*. 778: 64-72.
71. Fujikawa D.G., y Itabashi H.H., (1994). Status epilepticus induced-brain damage in humans. *Epilepsia* 35 (suppl.8): 9.

72. Fuseau E., y Sheiner L.B. (1984): Simultaneous modeling of pharmacodynamics with a nonparametric pharmacodynamic model. *Clin. Pharmacol. Ther.* 35: 733-741.
73. Galarreta, M. y Hestrin, S. (1998). Frequency-dependent synaptic depression and the balance of excitation and inhibition in the neocortex. *Nat. Neurosci.* 1, 587-594.
74. Gao, X. M., y Chuang D. M., (1992). Carbamazepine-induced neurotoxicity and its prevention by NMDA in cultured cerebellar granule cells. *Neurosci. Lett.* 135, 159-162.
75. Gao, X. M., Margolis R. L., Leeds, I., Hough, C., Post, R. M., y Chuang D. M., (1995). Carbamazepine induction of apoptosis in cultured cerebellar neurons: effects of NMDA, aurintricarboxylic acid and cycloheximide. *Brain Res.* 703, 63-71.
76. Gao, J., Zhang, J. X. y Xu T. L. (2002). Modulation of serotonergic projection from dorsal raphe nucleus to basolateral amygdala on sleep-waking cycle of rats. *Brain Res.* 26; 945(1):60-70.
77. Gastaut H., Roger J., Ouachi S., Timsit M. y Broughton R. (1963). An electroclinical study of generalized epileptic seizures of tonic expression. *Epilepsia* 4: 15.44.
78. Gastaut H., (1968). Les Myoclonies. *Rev. Neurol.* 119-130
79. Gibaldi M. (1991). Compartmental and noncompartmental pharmacokinetics. In: *Biopharmaceutics and clinical Pharmacokinetics*. Lea and Febiger Editors. Philadelphia and London, fourth Edition, pp. 14-23.
80. Gigli G. L., Placidini F., Diomedì M., Maschio M., Silvestre G., Scalise A., y Marciani M. G., (1997). Nocturnal sleep and daytime somnolence in untreated patients with temporal lobe epilepsy: Changes after treatment with controlled-release carbamazepine, *Epilepsia* 38(6):676-701.

81. Glazko, A. J., (1995). Antiepileptic drugs: Biotransformation, metabolism and serum half-life. *Epilepsia*. 16: 367.
82. Gloor, P., Quesney L.F., y Zumstein H.,(1979).The pattern of conduction of amygdaloid seizure discharge. *Electroencephalogr, Clin, Neurophysiol.*,43 (1977) 79-94.
83. Goddard, G.V. (1967) Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature (Lond)*, 214 1020-1021
84. González-Maciel A., Reynoso-Robles R., Romero- Velázquez R. M., Vargas L. y Ayala-Guerrero F. (2000). Effects of oxcarbazepine on the behavioral response and neuroanatomical alterations following administration of kainic acid. *Proc. West Pharmacol.* 43: 35-37.
85. González-Maciel A., Reynoso-Robles R., Romero- Velázquez R. M., Vargas L. y Ayala-Guerrero F. (2001). Effect of an anticonvulsant drug on kainic acid-induced brain damage. *Proc. West Pharmacol.* 44: 121-124.
86. González S., Quintana J., y Fabelo R. (1999). Cambios en el comportamiento de un grupo de pacientes con epilepsia y psicosis crónica después de un año de tratamiento con Lamotrigina. *Revista electrónica de Psiquiatría Vol.3, No.1 ISSN 1137-3148 La Habana, Cuba.*
87. Granillo R.J., Zanniello G., y Cristiano A., 24th International Epilepsy Congress, Buenos Aires, May 13-18,2001. *Epilepsia*. Vol.42 Supp 2.
88. Halász P. (1984). Sleep arousal and electroclinical manifestations of generalized epilepsy with spike wave pattern. In: Degen R, Niedermeyer E, eds *Epilepsy, sleep and sleep deprivation*. Amsterdam: Elsevier. 97-107.
89. Hammond, E.J., Hurd, R. W., Wilder, B.J., and Thomson, F.J., (1980). *Electroencephalogr, Clin, Neurophysiol.* 49, 184-186.

90. Hanna G.R. y Stalmaster, R.M., (1973). *Neurology* 22, 918-925.
91. Harvey, R., y Champe, P., (1992). *Pharmacology* J. B. Lippincott Co. Philadelphia, U.S.A. pp143-147.
92. Health Communications and Public Relations. *Epilepsy etiology, epidemiology and prognosis*. In: *Epilepsy out of the shadows*. Organization Press Office WHO. Fact Sheet. 165. World Health; 1997.
93. Heggli, D. E., Almodt, A. y Malthé-Sorensen, D. (1981). Kainic acid neurotoxicity; effect of systemic injection on neurotransmitter markers in different brain regions. *Brain Res.* 230,253-262.
94. Hendry, S. H. C., Houser, C. R., Jones, E. G., y Vaughn, J. E. (1983). Synaptic organization of immunocytochemically identified GABA neurons in the monkey sensory-motor cortex. *J. Neurocytol.* 12: 639-660.
95. Herb, A., Burnashev, N., Werner, P., Sakmann, B., Wisden, W., y Seeburg P.H. (1992). The KA-2 subunit of excitatory amino acid receptors shows widespread expression in brain and forms ion channels with distantly related subunits. *Neuron* 8: 775-785.
96. Hershkowitz, N., Dretchen, K. y Raines, A., (1978). Carbamazepine suppression of posttetanic potentiation at the neuromuscular junction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 207: 810-816.
97. Hittencourt P. (1988). *Epilepsy in Latin America*. En: Laidlaw J., Richens A, Oxley J, eds. *A textbook of epilepsy*, 3ra ed. Edinburg: Churchill-Livingstone; pp518-528.
98. Hobson J A., y McCarley R. W., (1974) Selective firing by cat pontine stem neurons in desynchronized sleep. *Journal of Neurophysiology*, 37, 1297-1299.

99. Hobson J A., McCarley R. W. y Wyzinski P W (1975). Sleep cycle oscillation reciprocal discharge by two brain neuronal groups. *Science*, 189, 55-58.
100. Holford N.H., y Sheiner L.B. (1981): Understanding the dose-effect relationship: Clinical application of pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin. Pharmacokinet.* 6: 429-453.
101. Hollmann M, y Heinemann, S. (1994). Cloned glutamate receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 17: 31-108.
102. Hollmann, M., Hartley, M., y Heinemann, S. F. (1991). Ca²⁺ permeability of KAAMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science* 252: 851-853.
103. Houser CR., (1991). Conductance rise induced by the calcium ionophore A23187 in unfertilized eggs of tilapia. *Exp Physiol.* 76:619-22.
104. Houser, C. R., Vaughn, J. E., Hendry, S. H. C., Jones, E. D., y Peters, A. (1984). GABA neurons in the cerebral cortex. In: *The Cerebral Cortex, Volume Two: Functional Properties of Cortical Cells*, E. D. Jones and A. Peters, eds. (New York: Plenum Press), pp. 63-89.
105. Ichikawa J, y Meltzer HY. (1999). Valproate and carbamazepine increase prefrontal dopamine release by 5-HT_{1A} receptor activation. *Eur J Pharmacol.* 3; 380(1):R1-3.
106. Ito, I., Tanabe, S., Kohda, A., y Sugiyama, H. (1990). Allosteric potentiation of quicualate receptors by a nootropic drug aniracetam. *J. Physiol.* 424: 533-543.
107. Jacobs, B.L. y Azmitia, E.C. (1992). The structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev.* 72, 165-229.

108. Jasper H.H. y Droogleever-Fortuny, (1946) Res. Publ.Assoc., 26, 272-278.
109. Johnson, J. W., y Ascher, P. (1987). Glycine potencies NMDA response in cultures mouse brain neurons. *Nature* 325: 529-531.
110. Jordan, K. G., Continuous EEG and evoked potential monitoring in the Neuroscience Intensive Care Unit. *J. Clin. Neurophysiol.*(1993) 10: 445-473.
111. Kaplan P.W., (1994). Nonconvulsive status epilepticus: to lump or to split? *Epilepsia* 35 (suppl.8):9.
112. Kawata Y, Okada M, Murakami T, Kamata A, Zhu G, y Kaneko S. (2001). Pharmacological discrimination between effects of carbamazepine on hippocampal basal, Ca (2+) and K (+)-evoked serotonin release. *Br. J. Pharmacol.* 133(4):557-67.
113. Keenan S. A. (1999). Normal sleep. *Respir Care. Clin North Am Sleep*; 5(3):319-331.
114. Kleckner, N. W., y Dingledine, R. (1988). Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Science* 241: 835-837.
115. Kleinor, Z y Turski, L. (1980). Kainic acid-induced wet dog shake in rats. Naunym- Schmiedeberg's. *Arch. Pharmac.* 314, 37-46.
116. Knopman, D.S., (1975) *Epilepsia*, 523-526.
117. Kopeloff L. M. (1955) *Arch.Neurol.Psychiatry*, 74, 523-526.

118. Koepp M.J., Hand K.S.P., y Labbé C., (1998). In Vivo [11C] Flumazenil-PET Correlates with Ex Vivo [3 H] Flumazenil Autoradiography in Hippocampal Sclerosis. *Ann Neurol* 43:618-626.
119. Köhler, M., Burnashev, N., Sakmann, B., y Seeburg, P.H. (1993). Determinants of Ca²⁺ permeability in both TM1 and TM2 of high affinity kainate receptor channels: diversity by RNA editing. *Neuron* 10: 491-500.
120. Kosacheva ES, Kudrin VS, Fedotova IB, Semiokhina AF, y Raevskii KS. (1998). The effect of carbamazepine on the content of monoamines and their metabolites in the brain structures of rats with audiogenic epilepsy. *Eksp Klin Farmakol.* 61(3):25-7.
121. Krumholz A., Sung G.Y., Fisher R.S. et al., (1995). Complex partial status epilepticus accompanied by serious morbidity and mortality. *Neurology* 45:1499-1504.
122. Kullman, D. M., Erdemli, G., y Aztely, F. (1996). LTP of AMPA and NMDA receptor-mediated signals: evidence for presynaptic expression and extrasynaptic glutamate spill-over. *Neuron* 17: 461-474.
123. Lai, M., y Huang, J., (1993). Dual effect of valproic acid on the pharmacokinetics of phenytoin. *Biopharm. Drug Disposit.* 14: 365- 370.
124. Lange, S.C., Neafsey, E.J., y Wyler, A.R. (1980) *Epilepsia*, 21, 251- 254.
125. Lakies, V., Molinar, P., y Erdo, S. L., (1995). Protection against veratridine toxicity in rat cortical cultures: relationship to sodium channel blockade. *Neuroreport*, 7 89-92.
126. Lee S. I., (1985). Nonconvulsive Status Epilepticus. *Arch Neurol* 42:778-781.

127. Lehmann A., Hagberg H, Jacobson I., y Hamberger A., (1985). Effects of status epilepticus on extracellular amino acids in the hippocampus. *Brain Res.* 359:147-51.
128. Leppik E. I., AED Doses: From animals to humans. En: *Antiepileptic Drug Development, Advances in Neurology*, Vol. 76, Editado por: J. French, I Leppik and MA Dichter. New York 1998 pp 89-93.
129. Lerma J, Zukin R. S., y Bennett, M. V. (1990). Glycine decreases desensitization of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors expressed in *Xenopus* oocytes and is required for NMDA responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87: 2354-2358.
130. Lerma, J., Zukin, R. S., y Bennett, M. V. (1991). Interaction of Mg²⁺ and phencyclidine in use-dependent block of NMDA channels. *Neurosci. Lett.* 123: 187-191.
131. Lerma, J. (1992). Spermine regulates N-Methyl-D-aspartate receptor desensitization. *Neuron* 8: 343-352.
132. Lerma, J. (1997a). Kainate reveals its targets. *Neuron* 19: 1155-1158.
133. Lerma, J., Morales, M., Vicente, M. A., y Herreras, O. (1997b). Glutamate receptors of the kainate type and synaptic transmission. *Trends Neurosci.* 20: 9-12.
134. Lerma, J. (1999) Kainate receptors. In: *Handbook of Experimental Pharmacology. Ionotropic glutamate receptors in the CNS*, edited by P. Jonas and H. Monyer. Berlin: Springer 141: 275-307.
135. Lerma, J., Paternain A V., Rodríguez-Moreno A., y López-García J C., (2001) Molecular physiology of Kainate receptors. *Physiol Rev.* 81:971-978.
136. Levy W. H., y Wurden C. J. Carbamazepine: Interactions with other drugs. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, eds: *Antiepileptic Drugs 4TH ed.* New York Raven Press; 1995: 555-65.
137. Lesch, D., y Spire, P. (1990) Clinical electroencephalography. Thorpy M. *Handbook of sleep disorders.* New York, pp. 13-31.
138. Litt B., Dizon L., y Ryan D., (1994). Fatal nonconvulsive status epilepticus in the elderly. *Epilepsia* 35 (suppl.8):10.
139. Lester, R. A., Clements, J. D., Westbrook, G, L., y Jahr, C. E. (1990). Channel kinetics determines the time course of NMDA receptor-mediated synaptic currents. *Nature* 346: 565-567.

140. Llinas, R y Hess, R. (1976) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73: 2520-2523.
141. Löscher, W., y Schmidt, D. (1988). Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res.* 2:145-181.
142. Lothman E. W., y Collins R. C., (1981). Kainic acid induced limbic seizures: metabolic, behavioral, electroencephalographic and neuropathological correlates. *Brain Res.* 218:299-318.
143. Lothman E., (1990). The biochemical basis and Pathophysiology of status epilepticus. *Neurology* 40(suppl.2):13-23.
144. Lowenstein D.H., y Alldredge B.K., (1998). Status Epilepticus. *N Engl J Med* 338(14):970-976.
145. Lloyd K.G. Munari C., Bossi L., y Morselli P.L. Neurochemical evidence for the GABA hypothesis of human epilepsy. En: *Advances in epileptology, XVth Epilepsy Int. Symp.* Edit. Porter RJ. Porter RH. Mattson AA, Ward Jr., Dams M. New York. Raven 1984 pp 3-7.
146. MacDonald, J. F., Bartlett, M. C., Mody, I., Papahill, P., Reynolds, J. N., Salter, M. W., Schneiderman, J. H., y Pennefather, P. S. (1991). Actions of ketamine, phencyclidine and MK-801 on NMDA receptor currents in cultured mouse hippocampal neurones. *J. Physiol. (Lond)* 432: 483-508.
147. Mackler, S. A., y Eberwine, J. H. (1993). Diversity of glutamate receptor subunit mRNA expression within live hippocampal CA1 neurons. *Mol. Pharmacol.* 44: 308-315.
148. Majumdar S, y Mallick BN. (2003). Increased levels of tyrosine hydroxylase and glutamic acid decarboxylase in locus coeruleus neurons after rapid eye movement sleep deprivation in rats. *Neurosci Lett.*6:338(3); 193-196.
149. Matejcek, M., y Devos, J. E., Selected methods of quantitative EEG analysis and their applications in psychotropic drug research. En: Kellaway, P. y Petersen, I. *Quantitative analytic studies in epilepsy.* Raven Press, Nueva York, (1976) pp. 183-205.

150. Malow B, Selwa L, Ross D., y Aldrich M. (1999). Lateralizing value of interictal spikes on overnight sleep-EEG studies in Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsia*. 40:11; 1597-1592.
151. Matsumoto H. y Ajmone-Marsan, C., (1964) *Exp.Neurol.*, 9, 286-304
152. Mayer, M. L., y Westbrook. G. L. (1987). Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurones. *J. Physiol.*, Lond. 394: 501-527.
153. McNamara, J. O., y Shin, C., (1994). Mechanism of epilepsy. *Annu. Rev. Med.* 45: 379-389.
154. Meguro, H., Mori, H., Araki, K., Kushiya, E., Kutsuwada, T., Yamazaki, M., Kumanishi, T., Arakawa, M., Sakimura, K., y Mishina, M. (1992). Functional characterization of a heteromeric NMDA receptor channel expressed from cloned cDNAs. *Nature* 357: 70-74.
155. Meldrum, B.S., y Horton R.W., (1971) *Brain Research*. 35, 419-436.
156. Mellanby J. Hawkins C.Mellanby, H., Rawlins, J.N.P., y Impery, M.E. J. (1984). *Physiol (Paris)*, 207-215.
157. Mendelson W.B., y Monti D., (1993). Do benzodiazepines induce sleep by a GABAergic mechanism? *Life Sci.* 53:PL81-87.
158. Min, M. Y., Meyland, Z., y Kullmann, D. M. (1999). Synaptically released glutamate reduces gamma-aminobutyric acid (GABA)ergic inhibition in the hippocampus via kainate receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96: 9932-9937.
159. Minato, H., Kikuta, C., Fujitami, B., y Masuda, Y., (1997). Protective effect of zonisamide an antiepileptic drug, against transient focal cerebral ischemia with middle cerebral artery occlusion reperfusion in rats. *Epilepsia*, 378,975-980.
160. Mirmiran M, y Van Someren E. (1993). Symposium: Normal and abnormal REM sleep regulation: The importance of REM sleep for brain maturation. *J Sleep Res.* Dec; 2(4):188-192.

161. Monyer, H., Sprengel, R., Schoepfer, R., Herb, A., Higuchi, M., Lomeli, H., Burnashev, N., Sakmann, B., y Seeburg, P. H. (1992). Heteromeric NMDA receptors: molecular and functional distinction of subtypes. *Science* 256: 1217-1221.
162. Monyer, H., Burnashev, N., Laurie, D. J., Sakmann, B., y Seeburg, P. H. (1994). Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 12, 529-540.
163. Morin F., Beaulieu C., y Lacaille J. C. (1999). Alterations of perisomatic GABA synapses on hippocampal CA1 inhibitory interneurons and pyramidal cells in the kainate model of epilepsy. *Neuroscience*, 93: 457– 467.
164. Moriyoshi, K., Masu, M., Ishii, T., Shigemoto, R., Mizuno, N., y Nakanishi, S. (1991). Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. *Nature* 354: 31-37.
165. Morselli y Bosi. (1982) *Antiepileptic Drugs*, 2nd de. (Woodbury, D. M.; Penry, J. K. y Pippenger, C. E. ; Eds) Raven Press, New York.
166. Morris, J., Dotson, E., y Hatlelid, J. (1987). Phenytoin and carbamazepine, alone and in combination: Anticonvulsant and neurotoxic effects. *Neurology*. 37:111-118.
167. Nadler J. V., Perry B. W., y Cotman C. W.,(1978). Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature*. 271:676-7.
168. Nadler, J. V., (1981). Kainic acid as tool for the study of temporal lobe epilepsy. *Life Sciences*.29: 165-167.
169. Nakanishi, N., Axel, R., y Shneider, N. A. (1992). Alternative splicing generates functionally distinct Nmethyl-D-aspartate receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 8552-8556.
170. Nakanishi, S. (1992). Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science* 258: 597-603.
171. Nicoll, R. A., Kauer, J. A., y Malenka, R. C. (1988). The current excitement in long-term potentiation. *Neuron* 1: 97-103.
172. Niedermeyer, E., Epileptic seizure disorder. En: Niedermeyer, E. y López da Silva, F. (Eds), *Electroencephalography: Basic principles, Clinical applications and related fields*. Urban & Schwarzenberg, Baltimore, (1987) pp. 405-410.

173. Nonaka, S., Katsube, N., y Chang D. M., (1998). Lithium protects rat cerebellar granule cells against apoptosis induced by anticonvulsivants, phenytoin and carbamazepine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 539-547.
174. Nowak, L.M., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A., y Prochiantz, A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature* 307, 462-465.
175. Okada M, Kiryu K., y Kawata Y., (1997). Determination of the effects of caffeine and carbamazepine on striatal dopamine release by microdialysis. *Eur. J. Pharmacol*, 32: 181-188.
176. Olpe H. R, y Jones R. S. (1983). The action of anticonvulsant drugs on the firing of locus coeruleus neurons: selective, activating effect of carbamazepine. *Eur J Pharmacol.* 15; 91(1):107-10.
177. Osorio-Rico L., Mancera Flores M., y Ríos C. (2003) Changes in brain turnover, body and head shakes in kainic acid-treated rats. *Pharmacol & Toxicol*, 92, 143-147.
178. Paschen, W., Schmitt, J., Gissel, C., y Dux, E. (1997). Developmental changes of RNA editing of glutamate receptor subunits GluR5 and GluR6: in vivo versus in vitro. *Dev. Brain Res.* 98: 271-280.
179. Paternain, A. V., Herrera, M. T., Nieto, M. A., y J. Lerma, J. (2000). GluR5 and GluR6 kainate receptor subunits coexist in hippocampal neurons and coassemble to form functional receptors. *J. Neurosci.* 20 (1): 196-205.
180. Patneau, D. K., Vyklicky, L., y Mayer, M. L. (1993). Hippocampal neurons exhibit cyclothiazidesensitive rapidly desensitizing responses to kainate. *J. Neurosci.* 13: 3496-3509.
181. Patry G. Lyagoubts, y Tassinari CA. (1971). Subclinical electrical status epilepticus induced by sleep in children: a clinical and electroencephalographic study of six cases. *Arch. Neurol.* 24:242-52.
182. Papy, J.J., y Naquet, R. (1971) *Cli.Dev.Med.*, 39, 283-296.
183. Pavone, A y Cardile, V., (2003). An in vitro study of new antiepileptic drugs and astrocytes. *Epilepsia*, 44 Suppl, 10: 34-39.

184. Pei, Y., Zhao, D., HuanG J., y Cao, L., (1983) *Epilepsia*, 24, 169-176.
185. Penfield, W., y Jasper, H. H., (1954). *Epilepsy and Functional anatomy of the human brain*. Boston, Little, Brown,
186. Peters, S., Koh, J., Choi, y D. W. (1987). Zinc selectively blocks the action of N-methyl-D-aspartate on cortical neurons. *Science* 236: 589-593.
187. Pierangelo Veggiotti, Francesca Beccarie, Renzo Guerrini, Giuseppe Capovillo y Giovanni Lazi. (1999). Continuous spike-and-wave activity during slow-wave-sleep: Syndrome or EEG pattern? *Epilepsia* 40 (11):1593-1601.
188. Pin, J. P., y Duvoisin, R. (1995). The metabotropic glutamate receptors: structure and function. *Neuropharmacology* 34: 1-26.
189. Pinelli A, Trivulzio S, y Tomasoni L. (1997). Effects of carbamazepine treatment on pain threshold values and brain serotonin levels in rats. *Pharmacol.* 54(3):113-7.
190. Piredda S. (1985), *Life Sci.*, 36, 1295-1298.
191. Placidi F., Marciani M. G., Diomedì M., Sauri F., Giacomini P., y Gigli G. L. (2000). Effects of Lamotrogine on nocturnal sleep, daytime somnolence and cognitive functions in focal epilepsy. *Acta Neurol Sacnd.* 102: 81-86.
192. Pollard, H., Héron, D., y Moreau, J., (1993). Alterations of the GluR-B AMP receptor subunit Flip/flop expression in Kainate-induced epilepsy and ischemia. *Neuroscience.* 57(3) :545-554.
193. Prieto-Huesca, G. Sueño y Vigilia. En: Ninomiya J. (1991) *Fisiología humana: Neurofisiología*. Editorial El Manual Moderno, México D. F.
194. Prince D.A. y Wong, R. K. L. (1981) *Brain Research*, 210, 323-333.
195. Purpura, D.P., Penry, J.K., Woodbury, D. M., Tower D.B. y Walter, R.D., Raven, N.Y., 1972, p.615.
196. Racine R. (1972) *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 32, 269-279.
197. Rataud, J., Debarnot, F., Veronique, M., Pratt, J.,Stutzmann J. M.,(1994). Comparative study of voltage-sensitive sodium channel blockers in focal ischemia and electric convolutions in rodents. *Neurosci. Lett.* 172, 19-23.

198. Rechtschaffen, A. y Kales, A. (1968). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Los Angeles: UCLA Brain information Service/Brain Research Institut.
199. Richens, A. (1977). Interaction with antiepileptic drugs. *Drugs*, 13: 266.
200. Ribak, C. E. (1978). Spinous and sparsely spinous stellate neurons in the visual cortex of rate contain glutamic acid decarboxylase. *J. Neurocytol.* 7: 461-478.
201. Ribak C. E. Bradburne R. M., y Harris A. B. (1983). A preferential loss of GABAergic, symmetric synapses in epileptic foci: a quantitative ultrastructural analysis of monkey neocortex. *J. Neurosci*, 2: 1725 – 1735.
202. Roberts R., (1998). Differential diagnosis of sleep disorders, non-epileptic attacks and epileptic seizures. *Curr Opin Neurol.* 11:135-9.
203. Roche, K. W., Raymond, L. A., Blackstone, C., y Huganir, R. L. (1994). Transmembrane topology of the glutamate receptor subunit GluR6. *J. Biol. Chem.* 269: 11679-11682.
204. Rodin, E.A. Rutledge L.T. y Calhoun H.D. (1958). Electroencephal.. *Clin.neurophysiol*, 10, 719-723
205. Rodríguez-Moreno A., López-García J C., y Lerma, J., (2000). Two populations of Kainate receptors with separate signaling mechanisms in hippocampal Interneurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97: 1293-1298.
206. Rodríguez-Rivera L. (1995). *Epilepsia: Diagnóstico y Tratamiento.* Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. México: Eds. Colección Ensayos.
207. Rosenmund, C., Stern-Bach, Y., y Stevens, C. F. (1998). The tetrameric structure of a glutamate receptor channel. *Science* 280: 1596-1599.
208. Rowland M., y Tozer T.N. (1989). *Clinical Pharmacokinetics: concepts and applications.* Second edition, Lea and Febiger editors, Philadelphia and London,
209. Sammaritano M, y Sherwin A. (2000). Effect of anticonvulsants on sleep. *Neurology*; 54(5 Suppl 1):S16-24.

210. Sammaritano M, Gigli, G. L., y Gotman, J. (1991) Intrictal spiking during wakefulness and sleep and localization of Foci in temporal lobe epilepsy. *Neurol.* 41: 290-297.
211. Sakai, K. (1991). Physiological properties an afferent connection of the Locus coeruleus and adjacent tegmental neurons involved in the generation of paradoxical sleep in the cat, In: Barnes, C. D., Pompeiano, O. (EDS), *Neurobiology of the Locus Coeruleus. Prog Brain Res.*, vol 88. Elsevier, Amsterdam, pp 31-45.
212. Saxena, PR., (1995). Serotonin receptors: subtypes, functional responses and therapeutic relevance. *Pharmacol Ther.* 66, 339-368.
213. Schliebs, R., Zivin, M., Steinbach, J. y Rothe, T. (1989). Changes in cholinergic but not in GABAergic markers in amygdala, piriform cortex and nucleus basalis of the rat brain following systemic administration of kainic acid. *J. Neurochem.* 53, 212-218.
214. Schiffer, H. H., Swanson, G. T., y Heinemann, S. F. (1997). Rat GluR7 and a carboxy-terminal splice variant, GluR7b, are functional kainate receptor subunits with a low sensitivity to glutamate. *Neuron* 19: 1141-1146.
215. Schliebs R, Zivin M, Steinbach J., y Rothe (1989). Changes in Cholinergic but not in Gabaergic Markers in amigdala, piriform cortex and nucleus basalis of the rat brain systemic administration of Kainic acid. *Journal of Neurochemistry.* 212-218.
216. Schwartzkroin, P. A. (1993) Basic mechanisms of epileptogenesis. En *The treatment of epilepsy: principles and practice* (E. Wyllie, Ed.) pp 83-98 Philadelphia.
217. Serikawa T., y Yamada J., (1986) *J. Hered.*, 77, 441-444.
218. Sherwin, A., Robitaille, Y., y Quesney, F., (1988) Excitatory amino acids are elevated in human epileptic cerebral cortex. *Neurology*38: 920-923.
219. Shinozaki, H., y Jonishi, S., (1979). Actions of several anthelmintics and insecticides on rat cortical neurones. *Brain Res.* 24: 368-371.
220. Sloviter R. S. (1983). "Epileptic" brain damage in rats induced by sustained electrical stimulation of the perforant path. I acute

- lectrophysiological and light microscopic study. *Brain Res. Bull.* 10 675–697.
221. Sloviter R. S., y Damiano B. P. (1981). Sustained electrical stimulation of the perforant path duplicates kainate induced electrophysiologic effects and hippocampal damage in rats. *Neurosci. Lett.* 24: 229-284.
222. Sloviter R. S., (1987). Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science.* 235:73-6.
223. Sloviter, R. M, S. (1994). On the relationship between neuropathology and pathology in the epileptic hippocampus of humans and experimental animals. *Hippocampus.* 4 (3) 250-253.
224. Sommer, B., y Seeburg, H. (1992). Glutamate receptors channels: novel properties and new clones. *TIPS* 13: 291-296.
225. Sperk, G., Lassman, H., y Baran, H., (1985). Kainic acid seizures: dose-relationship of behavioural, neurochemical and histopathological changes. *Brain Res.* 338:289-295.
226. Sperk, G. (1994). Kainic acid seizures in the rat. *Progress in Neurobiology.* 42: 1-32.
227. Steriade, M y McCarley, R. W. (1990). Brainstem control of wakefulness and sleep. Plenum Press, New Cork, 178-198.
228. Stern-Bach. Y., Bettler, B., Hartley, M., Sheppard, P.O., O'Hara, P. J., y Heinemann, S. F. (1994). Agonist selectivity of glutamate receptors is specified by two domains structurally related to bacterial amino acid-binding proteins. *Neuron* 13: 1345-1357.
229. Sudha S, Lakshmana MK, y Pradhan N. (1995). Changes in learning and memory, acetylcholinesterase activity and monoamines in brain after chronic carbamazepine administration in rats. *Epilepsia.* 36(4):416-22.
230. Sugihara, H., Moriyoshi, K., Ishii, T., Masu, M., y Nakanishi, S. (1992). Structure and properties of seven isoforms of the NMDA receptor generated by alternative splicing. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 185: 826-832.
231. Sutula, T. P., Cavazos, J. E., y Wooddard. (1994). Long-Term structural and functional alterations induced in the hippocampus by kindling: Implications

- for the memory dysfunction and the development of epilepsy. *Hippocampus*. 4 (3): 245-258.
232. Tanaka, K., Waase, K., Manabe, T., Yamada, K., Watanabe, M., Takahashi, K., Iwama, H., Nishikawa, T., Ichihara, N., y Kikuchi, T. (1997). Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. *Science* 276:1699-1702.
233. Taverna, F. A., Wang, L. Y., MacDonald, J. F., y Hampson, D. R. (1994). A transmembrane model for an ionotropic glutamate receptor predicted on the basis of the location of asparagine-linked oligosaccharides. *J. Biol. Chem.* 269: 14159-14164.
234. Taylor -Curval, D. y Gloor P. (1984) *Exp.neurol.*, 83, 167-186.
235. Taylor C. P., (1996). Voltage-gated Na⁺ channel as targets for anticonvulsant, analgesic and neuroprotective drugs. *Curr. Pharm. Des.* 2, 375-388.
236. Terzano MG, Parrino L, Anelli S, Boselli M, y Clemens B. (1992). Effects of generalized interictal EEG discharges on sleep stability: assessment by cycling alternating pattern. *Epilepsia*; 33: 317-326.
237. Traynelis, S. F., y Cull-Candy, S. G. (1990). Proton inhibition of N-methyl-D aspartate receptors in cerebellar neurons. *Nature* 345: 347-350.
238. Trussell, L. O., Zhang, S., y Raman, I. M. (1993). Desensitization of AMPA receptors upon multiquantal neurotransmitter release. *Neuron* 10:1185-1196.
239. Tsai, J. J., Lai, M.L. y Kao, Y. H. (1992), Comparison on bioequivalence of four phenytoin preparations in patients with multiple-dose treatment. *J. Clin. Pharmacol.* 32: 272-276.
240. Touchon J, Baldy-Moulinier M, Besset A, Valmier J, y Cadilhac J., (1987) Organisation du sommeil dans l'épilepsie récente du lobe temporal avant et après traitement par carbamazépine. *Rev Neurol*: 143: 462-467.
241. Trulsson, M. E. Jacobs B. L. Morrison, A. R. (1981). Raphe unit activity during REM sleep in normal and pontine lesioned cats displaying REM sleep without atonia. *Brain Res.* 26, 75-91.
242. Turski, W.A., Cruczwar, S.J., Kleinrok, Z. y Turski.L. (1983) *Experientia (Basel)*, 39 , 1408-1411.

243. Verdoorn, T. A., Burnashev, N., Monyer, H., Seeburg, P. H., y Sakmann, B. (1991). Structural determinants of ion flow through recombinant glutamate receptor channel. *FEBS Lett.* 308: 1715-1718.
244. Usunoff, G., Atsev, E. y Tchavdarov, (1969) *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 27, 444-447.
245. Wada J.A., Mayersdorf A. y Schmidt R.P., (1982). Raven Press, 45-87.
246. Wade JV, Samson FE, Nelson SR., y Pazdernik TL: *J Neurochem* 49: 545 (1987).
247. Watanabe, M., Inoue, Y., Sakimura, K., y Mishina, M. (1992). Developmental changes in distribution of NMDA receptor channel subunit mRNAs. *Neuroreport* 3: 1138-1140.
248. Westrum, L.E., White L.E., y Ward A.A., (1964) *J. Neurosurg.*, 21, 1033-1046.
249. Werner, P., Voigt, M., Keinänen, K., Wisden, W., y Seeburg, P. H. (1991). Cloning of a putative high-affinity kainate receptor expressed predominantly in hippocampal CA3 cells. *Nature* 351: 742-744.
250. Westbrook, G. L., y Mayer, M. L. (1987). Micromolar concentrations of Zn^{+2} antagonize NMDA and GABA responses of hippocampal neurons. *Nature* 328, 640-643.
251. Willow, M., Kuenzel, E., y Catterall, W., (1984). Inhibition of voltage-sensitive sodium channels in neuroblastoma cells and synaptosomes by the anticonvulsant drugs diphenylhydantoin and carbamazepine. *Molec. Pharmacol.* 25: 228-234.
252. Wong R.K.S., y Prince, D.A., (1979) *Science*, 204, 1228-1231.
253. Wo, Z. G., y Oswald, R. E. (1994). Transmembrane topology of two kainate receptor subunits revealed by N-glycosylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91: 7154-7158.
254. Woodbury D. M. Convulsant drugs: mechanisms of action. En: *Antiepileptic Drugs: Mechanisms of Action*. Edit. Glaser GH, Penry JK, Woodbury DM, New York: Raven, 1980, pp. 249-304.

255. Wyler A.R. y Ward A.A., *Brain Res.*, A Window to Brain Mechanisms, Raven Presss, New York (1980) 69-82.
256. Yukawa, E. (1996), Optimisation of antiepileptic drug therapy. *Clin. Pharmacokinetic.* 31: 120-130.
257. Yamada, K. A., y Tang, C. M. (1993). Benzothiadiazides inhibit rapid glutamate receptor desensitization and enhance glutamatergic synaptic currents. *J. Neurosci.* 13: 3904-3915.
258. Yan Q. S, Mishra P. K, Burger R. L, Bettendorf A. F, Jobe P. C, y Dailey J. W. (1992). Evidence that carbamazepine and antiepilepsirine may produce a component of their anticonvulsant effects by activating serotonergic neurons in genetically epilepsy-prone rats. *J. Pharmacol Exp Ther.* 261(2):652-9.
259. Zaczec, R, Nelson, M, F, y Coyle, T., J., (1978). Effects of anesthetics and anticonvulsants on the action of kainic acid in the rat hippocampus. *Eur. J. Pharmacol.* 52: 323-327.

ANEXO

CLASIFICACIÓN DE LAS CRISIS EPILÉPTICAS (Commission on Classification Terminology of the International League Against Epilepsy).

I. CRISIS PARCIAL (FOCAL, LOCAL)

Los cambios clínicos y electroencefalográficos indican activación inicial de un sistema de neuronas limitadas a partir de un hemisferio cerebral. Una crisis parcial es clasificada primeramente sobre la base del daño ocasionado en la conciencia, durante las crisis. Cuando la conciencia no es dañada, la crisis es clasificada como crisis parcial simple. Cuando la conciencia es dañada, la crisis es clasificada como crisis parcial compleja, el daño de conciencia puede ser el primer signo clínico, o una crisis parcial simple puede evolucionar en crisis parcial compleja. El daño de conciencia es definido como la incapacidad a responder normalmente a estímulos externos en virtud del conocimiento alterado y sensible. Es una evidencia considerable que las crisis parciales simples usualmente tiene la participación del hemisferio unilateral y en ocasiones participa el hemisferio bilateral, en crisis parciales complejas frecuentemente participa el hemisferio bilateral.

Las crisis parciales pueden clasificarse dentro de uno de los siguientes tres grupos fundamentales:

A. Crisis Parciales Simples

B. Crisis Parciales Complejas

1. Con daño de conciencia desde el inicio (Edad de inicio)
2. Parcial Simple seguida por daño de conciencia

C. Crisis Parciales desarrollando convulsiones tónico-clónico generalizadas (GTC)

1. Simple desarrollando GTC

2. Compleja desarrollando GTC (iniciando como parcial simple)

TIPO CLÍNICO DE CRISIS**TIPO DE DESCARGA EEG****A. CRISIS PARCIAL SIMPLE**

Descarga contralateral local empezando

(Sin daño en conciencia)

sobre la correspondiente área de
Representación cortical.

1. Con síntomas motores

- a) Motor focal sin marcha
- b) Motor focal con marcha (Jacksoniana)
- c) Versiva
- d) Postural
- e) Fonatoria (vocalización o detención del habla)

2. Con somatosensorial o síntomas sensoriales especiales

(Alucinaciones simples, por ejemplo; luces destellantes, zumbidos)

- a) Somatosensoriales
- b) Visual
- c) Auditivo
- d) Olfativo
- e) Gustativo
- f) Vertiginoso

3. Con síntomas autonómicos o signos (incluyendo sensación epigástrica, Sudoración, exaltación piloerección y dilatación de la pupila)

4. Con síntomas psíquicos (desorden alto de la función cerebral).

Estos síntomas raramente ocurren sin daño de conciencia y son más comúnmente experimentados como crisis parciales Complejas.

- a) Disfásicas
- b) Dismnésicas
- c) Cognoscitivas (estado de sueño, alteraciones del sentido del tiempo)

- d) Afectivo (temor, ira)
- e) Ilusiones (macropsia)
- f) Estructura de alucinaciones (música, escenas)

TIPO CLÍNICO DE CRISIS

B. CRISIS PARCIAL COMPLEJA.

(Con daños en conciencia: puede a veces existir sintomatología simple)

TIPO DE DESCARGA EEG

Descargas unilaterales o frecuentemente bilaterales difusa o focal en regiones temporal y frontotemporal

1. Parcial Simple seguida por daño de conciencia.

- a) Con Características de Parcial Simple como en A.1-4 (seguida por daño en conciencia)
- b) Sin automatismo

C. CRISIS PARCIALES desarrollando un ataque Secundario generalizado (Esto puede ser tónico-clónico generalizado)

Las descargas llegan a ser secundarias y rápidamente generalizadas.

1. Crisis Parciales Simples (A) se desarrollan a crisis generalizadas
2. Crisis Parciales Complejas (B) se desarrollan a crisis generalizadas
3. Crisis Parciales Simples se desarrollan a Crisis Parciales Complejas produciendo crisis generalizadas.

II. CRISIS GENERALIZADAS (CONVULSIVAS O NO CONVULSIVAS)

Los primeros cambios clínicos indican la participación de ambos hemisferios. La conciencia puede ser dañada, y este daño puede ser la manifestación inicial. Manifestaciones motoras son bilaterales. Los patrones electroencefalográficos ictal inicialmente son bilaterales y presumiblemente reflejan descargas neuronales, lo cual es general en ambos hemisferios.

TIPO CLÍNICO DE CRISIS EEG	TIPO DE DESCARGA
A. Ausencia de crisis	
1. Ausencia Típica simétrica	Usualmente regular y
a).-Daño de conciencia solamente	3 Hz pero pueden ser 2-4 Hz
b).-Con componentes clónicos leves	espigas y ondas lentas complejas
c).-Con componentes atónicos	pueden tener múltiples espigas y
d).-Con componentes tónicos	ondas complejas.
e).-Con automatismo	Las anomalías son
f).-Con componentes autonómicos	bilaterales.

TIPO CLÍNICO DE CRISIS	TIPO DE DESCARGA EEG
2. Ausencia Atípica	EEG más heterogéneo; puede incluir espigas y ondas lentas irregulares complejas, la actividad rápida o actividad paroxysmal. Anormalidades son bilaterales pero frecuentemente irregulares y asimétricas.

Pueden tener:

- a) Cambios en tono que son más pronunciados en A.1
- b) Cesación que no es brutal.

B.- Crisis Mioclónicas, espasmos mioclónicos (Simples o múltiples)	Poliespigas y ondas o algunas espigas y ondas o patrones de
--------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------

C.-Crisis Clónicas	Ondas puntiagudas. Actividad rápida (10 cm/seg) y ondas lentas; ocasionalmente patrones de espigas y ondas.
D. Crisis Tónicas	Voltaje bajo, actividad rápida o ritmo rápido de 9-10 cm/seg, disminuyendo en frecuencia y aumentando en amplitud.
E. Crisis tónico-clónico	Ritmo a 10 o más cm/seg, disminuyendo en frecuencia y aumentando en amplitud durante la fase tónica, interrumpido por ondas lentas durante la fase clónica.
F. Crisis Atónicas (astáticas)	Poliespigas y ondas o aplanamiento Voltaje bajo y actividad rápida.

III. CRISIS EPILÉPTICAS NO CLASIFICADAS

Incluye todas las crisis que no pueden ser clasificadas a causa de datos inadecuados o incompletos y algunos que desafían hasta ahora las categorías descritas. Estas incluyen algunas crisis neonatales por ejemplo movimiento de ojos rítmico, masticación y movimientos de natación.

Las crisis epilépticas repetidas ocurren bajo una variedad de circunstancias:

1. Como crisis fortuitas, llegando inesperadamente y sin provocación aparente única.

2. Como ataques cíclicos son más o menos intervalos regulares (con relación al ciclo menstrual o el ciclo sueño-vigilia)
3. Como ataques provocados por:
 - a. Factores no sensoriales (fatiga, alcohol, emoción)
 - b. Factores sensoriales, algunos se refieren como crisis reflejante.

Las Crisis repetidas o prolongadas (*estatus epilépticus*); el termino estatus epilépticus es usado siempre que una crisis persiste por un tiempo lo suficientemente grande o es repetido tan frecuentemente que la recuperación entre ataques no ocurre. El *estatus epilépticus* puede ser dividido en parcial (Jacksoniano) o generalizada (estado de ausencia, estado tónico-clónico). Cuando el estado motor es localizado es referido como epilepsia parcial continua. Últimamente, una clasificación patofisiológica basada en un aumento de los conocimientos sobre epileptogénesis, además de ictogenicidad, puede representar una mejor clasificación actual existente, principalmente electroclínico. La ictogenicidad es el proceso por el cual una persona con epilepsia manifiesta los procesos de crisis individual generalizada y se basa en circunstancias que alteran el equilibrio de la membrana eléctrica, resultado del abrir y cerrar de ionoforos, dependiendo, de algunas prolongaciones, por lo menos, en una alteración en la concentración de ligandos excitatorios e inhibitorios. La epileptogénesis, es el proceso de perturbación de la red o sistema neuronal, por ejemplo, corticoreticular o límbico, principalmente alterando la función del cerebro, esto se ha descrito como *predisposición epiléptica*.

B. Clasificación de las epilepsias y de los síndromes epilépticos⁹

1. Epilepsias localizadas (focales)

1.1 Idiopáticas

- Epilepsia benigna de la infancia con puntas centrotemporales
- Epilepsia de la infancia con paroxismos occipitales
- Epilepsia primaria de la lectura

1.2 Sintomáticas

- ☐ Epilepsia parcial continua progresiva de la infancia (síndrome de Kojewnikow)
- ☐ Síndromes caracterizados por crisis con modos específicos de precipitación
 - Epilepsias del lóbulo temporal

- Epilepsias del lóbulo frontal
- Epilepsias del lóbulo parietal
- Epilepsias del lóbulo occipital

1.3 Criptogénicas

- Epilepsias del lóbulo temporal
- Epilepsias del lóbulo frontal
- Epilepsias del lóbulo parietal
- Epilepsias del lóbulo occipital

2. Epilepsias o síndromes generalizados

2.1 Idiopáticos

- Convulsiones neonatales benignas familiares
- Convulsiones neonatales benignas
- Epilepsia mioclónica benigna de la infancia
- Ausencia infantil
- Ausencia juvenil
- Epilepsia con crisis de gran mal al despertar
- Otras epilepsia generalizadas idiopáticas
- Epilepsias con crisis precipitadas por modos de activación específicos

2.2 Criptogénicos o sintomáticos

- Síndrome de West o espasmos infantiles
- Síndrome de Lennox-Gastaut
- Epilepsia con crisis mioclónicas astáticas
- Epilepsia con ausencias mioclónicas

2.3 Sintomáticos

- Etiología no especificada
- Encefalopatía mioclónica temprana
- Encefalopatía infantil temprana con brotes de supresión
- Otras
- Síndromes específicos

3. Epilepsias o síndromes sin determinar si son generalizados o focales

3.1 Con crisis generalizadas y focales

- Crisis neonatales

- . Epilepsia mioclónica severa de la infancia
- . Epilepsia con punta-onda continua durante el sueño lento
- . Afasia epiléptica adquirida (Síndrome de Landau-Kleffner)
- . Otras

3.2 Sin claras crisis generalizadas o focales

4. Síndromes especiales

- . Convulsiones febriles
- . Crisis aisladas o estado de mal epiléptico aislado
- . Crisis en el seno de una alteración metabólica o tóxica

the first day after kainic acid administration, animals remaining awake during the 10-h electrographic recording. The amount of wakefulness decreased progressively across the subsequent recording days (Fig. 1). There is a complete inhibition of SWS the first day of kainic acid administration. Sleep patterns recovered progressively, SWS reappearing the second recording day but not reaching the control levels until the fifth recording day (Fig. 2).

REM sleep was the most affected. There is a complete inhibition of REM sleep during the first day after kainic acid administration. Then a progressive recovery is observed in subsequent days (Fig. 3).

Carbamazepine exerted a protective effect against the sleep patterns alterations induced by kainic acid. Although there was a reduction in the amount of sleep after administration of kainic acid in carbamazepine-pretreated animals, sleep inhibition was not complete, as SWS was present from the first recording day. Only REM sleep was inhibited, wakefulness increasing 28% in relation to control values while SWS showed a reduction of 19% (Fig. 4).

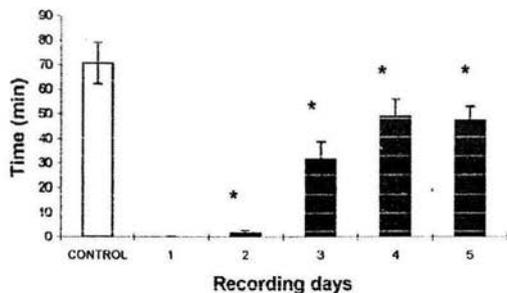


Figure 3. Effect of seizures on REM sleep, Control (white bars) and after kainic acid administration (black bars). Mean values ($n=8$, mean \pm SD) were statistically compared using Student's *t*-test $*p \leq 0.05$.

DISCUSSION: As described previously, the sleep and wakefulness nyctohemeral organization plays an important role in the incidence of the epileptic seizures [7,17,18]. It has been shown that sleep patterns respond differently to different types of seizures [19,20]. Sleep facilitates temporal lobe seizures. Epilepsy originating in this region, therefore, is considered a nocturnal sleep epilepsy [18,19,21].

On the other hand, despite the numerous studies that relate epileptic seizures to sleep, there are few reports that describe the possible influence exercised by the epileptic seizures on the sleep organization. In the epilepsy model of the temporal lobe that we implemented, we observed a significant disorganization of the sleep-wakefulness cycle, involved both SWS and REM sleep phases. These findings agree partially with those obtained from sleep re-

cordings carried out in patients immediately after occurrence of generalized seizures, where a transient decrease of REM sleep is observed [7,9]. A similar decrease has been described in experimental models of temporal lobe epilepsy, where epileptiform activity was triggered by electric shocks applied to the amygdala or hippocampus [13,22,23]. It has been observed that the decrease in the amount of REM sleep persisted, but after electrical stimulation had ceased [24,25]. We observed similar effects in our experimental model, where the sleep inhibition persisted some time after the behavior and electrographic symptoms of the epileptic seizures had disappeared. This suggests that such inhibition and longtime insomnia is not only due to a physical effect of the electrical stimulation or an immediate pharmacological action, induced by kainic acid administration, but is probably also due to an action exercised on the neurophysiologic mechanisms that regulate the sleep-wakefulness cycle. It is also interesting from the pathophysiological viewpoint that the reduction of sleep induced by the epileptic seizures did not produce a compensatory increase as normally observed with sleep inhibition produced by other means [24].

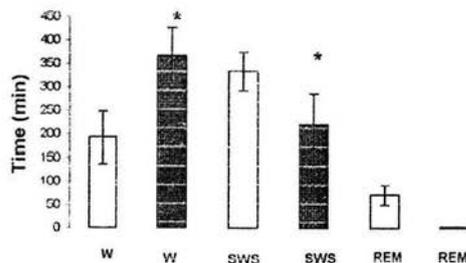


Figure 4. Effect of carbamazepine on sleep patterns disturbed by kainic acid administration: Control (white bars) and after kainic acid administration with carbamazepine-pretreated rats (black bars). Wakefulness (W), slow wave sleep (SWS) and REM sleep (REM). Mean values ($n=8$, mean \pm SD) were statistically compared using Student's *t*-test $*p \leq 0.05$.

Our results showed that seizures induced a total inhibition of sleep, since both SWS and REM sleep were absent through out the first day after kainic acid administration. This effect was partially reversed by carbamazepine, since pretreated animals were able to show SWS.

Our conclusion is that, besides decreasing seizure intensity, carbamazepine facilitates partial recovery of sleep.

REFERENCES

1. Broughton RJ: Epilepsy, sleep and sleep deprivation, (eds) Amsterdam: Elsevier, 1984: 317-356.
2. Baidy-Moulinier M: Sleep and Epilepsy, (eds) Academic Press, New York, 1982. 347-359.
3. Beran RG, Plunkett MJ & Holland GJ: *Seizure* 8: 97-102 (1999).

the first day after kainic acid administration, animals remaining awake during the 10-h electrographic recording. The amount of wakefulness decreased progressively across the subsequent recording days (Fig. 1). There is a complete inhibition of SWS the first day of kainic acid administration. Sleep patterns recovered progressively, SWS reappearing the second recording day but not reaching the control levels until the fifth recording day (Fig. 2).

REM sleep was the most affected. There is a complete inhibition of REM sleep during the first day after kainic acid administration. Then a progressive recovery is observed in subsequent days (Fig. 3).

Carbamazepine exerted a protective effect against the sleep patterns alterations induced by kainic acid. Although there was a reduction in the amount of sleep after administration of kainic acid in carbamazepine-pretreated animals, sleep inhibition was not complete, as SWS was present from the first recording day. Only REM sleep was inhibited, wakefulness increasing 28% in relation to control values while SWS showed a reduction of 19% (Fig. 4).

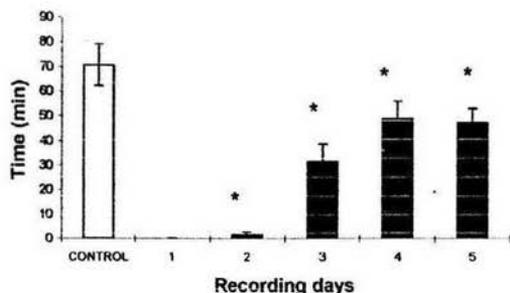


Figure 3. Effect of seizures on REM sleep. Control (white bars) and after kainic acid administration (black bars). Mean values ($n=8$, mean \pm SD) were statistically compared using Student's *t*-test * $p \leq 0.05$.

DISCUSSION: As described previously, the sleep and wakefulness nyctohemeral organization plays an important role in the incidence of the epileptic seizures [7,17,18]. It has been shown that sleep patterns respond differently to different types of seizures [19,20]. Sleep facilitates temporal lobe seizures. Epilepsy originating in this region, therefore, is considered a nocturnal sleep epilepsy [18,19,21].

On the other hand, despite the numerous studies that relate epileptic seizures to sleep, there are few reports that describe the possible influence exercised by the epileptic seizures on the sleep organization. In the epilepsy model of the temporal lobe that we implemented, we observed a significant disorganization of the sleep-wakefulness cycle, involved both SWS and REM sleep phases. These findings agree partially with those obtained from sleep re-

cordings carried out in patients immediately after occurrence of generalized seizures, where a transient decrease of REM sleep is observed [7,9]. A similar decrease has been described in experimental models of temporal lobe epilepsy, where epileptiform activity was triggered by electric shocks applied to the amygdala or hippocampus [13,22,23]. It has been observed that the decrease in the amount of REM sleep persisted, but after electrical stimulation had ceased [24,25]. We observed similar effects in our experimental model, where the sleep inhibition persisted some time after the behavior and electrographic symptoms of the epileptic seizures had disappeared. This suggests that such inhibition and longtime insomnia is not only due to a physical effect of the electrical stimulation or an immediate pharmacological action, induced by kainic acid administration, but is probably also due to an action exercised on the neurophysiologic mechanisms that regulate the sleep-wakefulness cycle. It is also interesting from the pathophysiological viewpoint that the reduction of sleep induced by the epileptic seizures did not produce a compensatory increase as normally observed with sleep inhibition produced by other means [24].

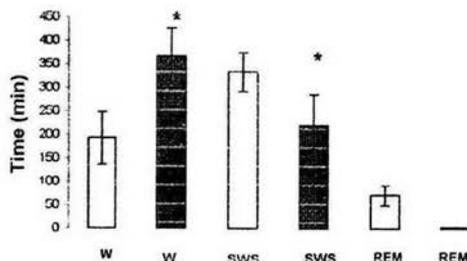


Figure 4. Effect of carbamazepine on sleep patterns disturbed by kainic acid administration: Control (white bars) and after kainic acid administration with carbamazepine-pretreated rats (black bars). Wakefulness (W), slow wave sleep (SWS) and REM sleep (REM). Mean values ($n=8$, mean \pm SD) were statistically compared using Student's *t*-test * $p \leq 0.05$.

Our results showed that seizures induced a total inhibition of sleep, since both SWS and REM sleep were absent through out the first day after kainic acid administration. This effect was partially reversed by carbamazepine, since pretreated animals were able to show SWS.

Our conclusion is that, besides decreasing seizure intensity, carbamazepine facilitates partial recovery of sleep.

REFERENCES

- Broughton RJ: Epilepsy, sleep and sleep deprivation, (eds) Amsterdam: Elsevier, 1984: 317-356.
- Baldy-Moulinier M: Sleep and Epilepsy, (eds) Academic Press, New York, 1982, 347-359.
- Beran RG, Plunkett MJ & Holland GJ: Seizure 8: 97-102 (1999).

4. Bazil CW: *Curr Opin Neurol* 341: 1607-10 (2000).
5. Malow B, Selwa L, Ross D & Aldrich M: *Epilepsia* 40:11: 1592-97 (1999).
6. Halász P: *Epilepsy, sleep and sleep deprivation* (ed) Amsterdam: Elsevier, 1984, p.97.
7. Bazil CW, Castro LH & Walczak TS: *Arch Neurol* 57: 363-68 (2000).
8. Cortesi F, Giannotti F & Ottariano S: *Epilepsia* 40: 1557-65 (1999).
9. Bazil CW & Walczak TS: *Epilepsia* 38: 69 (1998).
10. Upton N, Blackburn TP, Capbell CA, Cooper D Evans ML & Thompson M: *Br J Pharmacol* 121: 1679-86 (1997).
11. Bertorelli R, Ferri N, Adami M & Ongini E: *Pharmacol Biochem Behav* 53: 559-65 (1996).
12. Sammaritano M & Sherwin A: *Neurology* 54: S16-24 (2000).
13. Coenen AM, Ates N, Skarsfeldt T & Van Luijtelaar EL: *Pharmacol Biochem Behav* 51: 353-7 (1995).
14. Placidi F, Diomedì M Scalise A, Marciani MG, Romigi A & Gigli GL: *Neurology* 54: S25-32 (2000).
15. Graulich JF, McLaughlin RG, Birkhahn D, Burk A, Jobe PC & Dailey JW: *Eur J Pharmacol* 369: 305-11 (1999).
16. Mansuri SM, Raval JD, Girdhar AO & Gandhi TP: *Indian J Physiol Pharmacol* 28: 315-8 (1984).
17. McNamara JO & Shin C: *Annu Rev Med* 45: 379-89 (1994).
18. Malow B, Selwa L, Ross D & Aldrich M: *Epilepsia* 40:11; 1597-1592 (1999).
19. Sammaritano M, Gigli GL & Gotman J: *Neurol* 41: 290-97 (1991).
20. Roberts R: *Curr Opin Neurol* 11: 135-39 (1998).
21. Crespel A, Coubes P & Baldy-Moulinier M: *Clin Neurophysiol* 2: S54-9 (2000).
22. Schliebs R, Zivin M, Steinbach J & Rothe: *J Neurochem* 212-218 (1989).
23. Fernández-Guardiola, A: *Gaceta Médica de México* 128: 443-460(1992).
24. Degen R & Rodin EA: *Epilepsy, sleep and sleep deprivation* (eds) Amsterdam: Elsevier, 1991.
25. Frank MG, Page J & Heller: *Brain Res* 778: 64-72 (1997).