



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

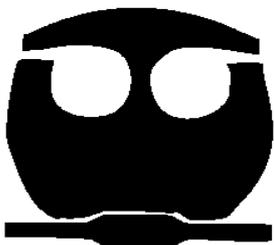
FACULTAD DE QUÍMICA

**ANÁLISIS EEG Y CONDUCTUAL DEL EFECTO
ANTICONSULSIVO PRODUCIDO POR EL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Annona diversifolia* Saff. EN RATAS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ELISA TAPIA TLATENCHI



MÉXICO, D.F.

2006



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.

Jurado asignado:

Presidente Prof. Rachel Mata Essayag

Vocal Prof. Andrés Navarrete Castro

Secretario Prof. María Eva González Trujano

1er. Suplente Prof. Marco Antonio Esquivel Pichardo

2º. Suplente Prof. Sergio Ismael Martínez Luis

El presente trabajo de tesis fue realizado en el Laboratorio de Microdiálisis del
Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”

Dra Ma. Eva González Trujano

Asesora

Biólogo Adrián Martínez Cervantes

Supervisor Técnico

Elisa Tapia Tlatenchi

Sustentante

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Microdiálisis del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” por las facilidades en recursos materiales y en el suministro de animales para el desarrollo de esta tesis.

A la Dra. María Eva González Trujado por haber aceptado ser mi asesora, así como el apoyo y la comprensión que me brindo durante todo el proyecto.

A la Dra. Rachel Mata Essayag, al Dr. Andrés Navarrete Castro, a la Dra. María Eva González Trujado como miembros del jurado, y al Biólogo Adrián Martínez Cervantes por sus valiosos comentarios y observaciones en la revisión del manuscrito de tesis.

A Edith López por haberme asesorado en la lectura de los registros.

A Bernardo Contreras por el apoyo técnico brindado.

A la M.C. María del Carmen Parra González por haberme apoyado y ser parte importante de mi formación académica.

A la Dra. Gisele Olivia Rosas Solares por sus valiosos comentarios y observaciones del presente trabajo de tesis

DEDICATORIAS

A Dios por haberme dado la fuerza para concluir esta etapa de mi vida.

A Leobardo Tapia Vergara, mi papá por confiar en mi y ayudarme a realizar todos los proyectos y metas que me he fijado. Y a Felipa Tlatenchi Ramírez, mi mamá por todo su cariño y comprensión, por ser mi amiga y cómplice, por impulsarme a seguir con lo que me propongo.

A Faustino y Yanet, mis hermanos, por ser tan maravillosos conmigo y soportarme y quererme como soy.

A mis abuelitos (Mari, Sofi, Esteban y Ole) y tíos (Enrique, Rosalío, Melia, Vicenta, Natalia, Lena, German, Cirilo, Epifanio, Agustín, Joaquín, Josefina, Victoria, Isabel y Teodora) por su apoyo y sus sabios y atinados consejos.

A David por ser ahora el complemento que faltaba en mi vida, por ser mi amigo antes que mi novio, por la comprensión y apoyo que me da.

A mis queridos amigos Lulú, Gisele, Abelardo, Mari y Arturo, por haberme hecho sentir parte de un grupo y ser estupendos amigos.

A la Maestra Carmen, Lulú Vega, Dulce, Marcelino, Noemí, Carlos, Chío, Angélica, Ruth, Mario, Chucho, Diego, Miguel Ángel, Rafas, Ricardo, por sus consejos y apoyo incondicional.

A Dalia y Janeth por ser grandes amigas y estar siempre para escucharme y levantarme cuando me he caído.

A todos mis seres queridos por ser el motor que me impulsa a seguir adelante, por ser parte fundamental de mi vida.

	Página
Abreviaturas	i
Índice de figuras	iii
Índice de tablas	v
Resumen	vi
1. Marco teórico	1
1.1 Sistema Nervioso Central	1
1.1.1 Corteza cerebral	2
1.1.2 Sistema límbico	3
1.1.3 Hipocampo	4
1.1.4. Amígdala	5
1.1.5 Formación reticular	6
1.1.6 Núcleo Pedúnculo Pontino (PPT)	7
1.1.7 Núcleo Profundo Mesencefálico (NPM)	7
1.2 Bases moleculares de la comunicación neuronal	8
1.2.1 Sinapsis	9
1.2.2. Neurotransmisión GABAérgica y glutamatérgica .	12
1.3. Epilepsia	16
1.3.1. Farmacología de la epilepsia	18
1.3.2. Epilepsia y sueño	21
1.3.3. Electroencefalograma (EEG)	24
1.3.4 Modelos experimentales de epilepsia	26
1.3.5. Foco amigdalino inducido con penicilina	28
1.4 El uso tradicional de las plantas	29
1.4.1 <i>Annona diversifolia</i> Saff	31
2. Planteamiento del problema	33
3. Hipótesis	34
4. Objetivo general	35
4.1 Objetivos particulares	35
5. Materiales y métodos	36

	Página
5.1 Fármacos y/o sustancias de prueba	36
5.2 Material vegetal	36
5.3 Preparación del extracto	36
5.4 Animales	36
5.5 Procedimientos experimentales	37
5.5.1 Anestesia	37
5.5.2 Implante	37
5.5.3 Registro	37
5.5.4 Extracción de cerebro y tinción	38
5.5.5 Análisis de los registros	39
5.6 Análisis estadístico	39
6. Resultados	40
6.1. Efecto del extracto de <i>A. diversifolia</i> en el sueño	40
6.2. Efecto del extracto de <i>A. diversifolia</i> en las crisis convulsivas inducidas por la aplicación de penicilina intra-amigdalár	44
7. Discusión de resultados	52
8. Conclusiones	56
9. Perspectivas	57
10. Bibliografía	58

En México, la epilepsia se ha tratado frecuentemente con los remedios herbolarios. Gill en 1948 reportó que la decocción de plantas pertenecientes a la familia Annonaceae, entre otras, eran usadas como antiepilépticos. Mientras que N'Gouemo y col. en 1997, describen que el extracto de *Annona muricata* L. disminuye las crisis convulsivas inducidas con pentilentetrazol (PTZ) en ratones. En 1998, González-Trujano y col., reportaron el primer estudio para *Annona diversifolia* Saff. considerando sus efectos en el sistema nervioso central entre los cuales se menciona su efecto para retardar las crisis convulsivas inducidas con PTZ. Por otro lado en este trabajo se utilizó el modelo de inducción de crisis por la administración de penicilina en los núcleos amigdalinos para inducir un aumento en la actividad eléctrica cerebral, este modelo se relaciona con la epilepsia observada en el humano. Este efecto se evaluó mediante el registro electroencefalográfico (EEG) de dicha actividad.

En este estudio se analizó el efecto del tratamiento con el extracto de annona en los cambios electroencefalográficos y de la conducta producida por las crisis inducidas por la administración de penicilina. Para ello, ratas macho Wistar (250-300 g) se utilizaron para implantar un electrodo bipolar con cánula en el núcleo central amigdalino para la inducción de las crisis convulsivas. En cada experimento se trabajó con un grupo control (solución salina al 0.5% en tween 80, i.p.) y un tratamiento (extracto 30 mg/kg, i.p.). La actividad eléctrica basal se registró durante 30 minutos previo a los tratamientos. Después de la administración del vehículo y el extracto se realizó un registro polisomnográfico durante 60 minutos y al término de éstos se indujeron las crisis convulsivas por la administración de penicilina 100UI/ μ l, el registro EEG se continuó hasta completar 240 minutos. En paralelo al EEG se anotaron los diferentes cambios conductuales presentados como estadíos. La administración del extracto no produjo efectos sedantes, sin embargo mostró actividad anticonvulsiva al prevenir la manifestación de los estadíos IV y V relacionados con las crisis generalizadas y al reducir el número y duración de las espigas en el EEG. Estos resultados refuerzan el efecto anticonvulsivo del extracto de *A. diversifolia* y sugieren que el mecanismo de acción de éste podría estar asociado a una inhibición de la generalización de la actividad convulsiva hacia la corteza por acción del sistema GABAérgico.

1.-MARCO TEÓRICO

Las notorias fronteras de la investigación científica fundamental avanzan a gran velocidad y ofrecen resultados crecientemente fascinantes, tal es el caso de las *neurociencias*. Estas constituyen un ejemplo de lo que podríamos denominar una transdisciplina, es decir, la interacción de diversas especialidades que operan en los distintos niveles de organización de la realidad (molecular, celular, tisular y orgánico) para entender integralmente la función del sistema natural biológico más complejo que conocemos: el cerebro¹.

1.1 Sistema Nervioso Central

El sistema nervioso central (SNC) está constituido por el *encéfalo* y la *médula espinal* (Fig. 1). Los dos órganos son huecos y están protegidos por tres membranas: la duramadre, la piamadre y la aracnoides, denominadas genéricamente meninges. Además, el encéfalo y la médula espinal están protegidos por envolturas óseas, que son el cráneo y la columna vertebral respectivamente¹.

Los huecos de estos órganos están llenos de un líquido incoloro y transparente, que recibe el nombre del *líquido cefalorraquídeo*. Sus funciones son muy variadas: sirve como medio de intercambio a determinadas sustancias; como sistema de eliminación de productos residuales; para mantener el equilibrio iónico adecuado y como sistema amortiguador mecánico¹.

Las células que forman el SNC se disponen de tal manera que dan lugar a dos formaciones muy características: la *sustancia gris*, constituida por los cuerpos neuronales, y la *sustancia blanca*, formada principalmente por fibras nerviosas¹.

El *encéfalo*, situado en el interior del cráneo, se compone del *cerebro*, *cerebelo* y *bulbo raquídeo*. La *médula espinal* es un cordón nervioso, blanco y cilíndrico encerrado dentro de la columna vertebral. Su función más importante es conducir mediante las vías nerviosas de que está formada, la corriente que

conduce las sensaciones hasta el cerebro y los impulsos nerviosos que llevan las respuestas del cerebro a los músculos¹.

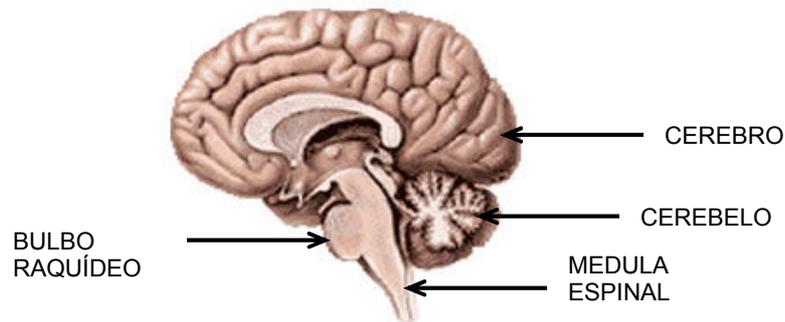


Figura1. Sistema Nervioso Central¹

1.1.1 Corteza cerebral

La corteza cerebral es la porción más grande del sistema nervioso. La mayoría de las células de la corteza cerebral son de tres tipos: 1) granulares (también denominadas estrellas), 2) fusiformes y 3) piramidales. Las células granulares, en general, tienen axones cortos y funcionan principalmente como interneuronas intracorticales. Algunas son excitadoras y liberan principalmente el aminoácido excitador glutamato; otras son inhibitoras y liberan principalmente ácido gamma-aminobutírico (GABA), un neurotransmisor inhibitor. Las áreas sensoriales de la corteza, así como las áreas de asociación entre lo sensorial y lo motor, tienen grandes concentraciones de estas células granulares, lo que sugiere un elevado grado de procesamiento intracortical de las señales sensoriales aferentes y de las señales analíticas cognitivas en las áreas de asociación¹.

Las células piramidales y fusiformes son el origen de casi todas las fibras que salen de la corteza. Las células piramidales son la fuente de largas y grandes fibras nerviosas que descienden hasta la médula espinal. También son el origen de la mayor parte de los grandes haces subcorticales de asociación que pasan de una región del encéfalo a otra¹.

Todas las áreas de la corteza cerebral tienen conexiones aferentes y eferentes con estructuras más profundas del encéfalo. El control de la conducta es una función de la totalidad del sistema nervioso. Incluso, los reflejos

espinales aislados son un elemento de la conducta; por ejemplo, el ciclo de la vigilia y el sueño es uno de nuestros patrones conductuales más importantes¹.

La corteza cerebral funciona como una zona de transición a través de la cual se transmiten señales del resto de la corteza al sistema límbico, y también en la dirección opuesta. Por tanto, la corteza límbica funciona efectivamente como un área cerebral de asociación para el control de la conducta. El área prefrontal, funciona con estrecha asociación con la corteza motora para planificar patrones motores complejos y secuencias de movimiento. El área límbica, es un área de asociación que se encuentra en el polo anterior del lóbulo temporal, en la porción ventral del lóbulo frontal, y en la circunvolución callosa de la superficie media del hemisferio cerebral. Está relacionada principalmente con la conducta, las emociones y la motivación¹.

1.1.2 Sistema límbico

Por otro lado se han identificado varias partes cerebrales que se encargan de procesar las emociones, todas ellas forman un sistema cerebral llamado *sistema límbico* (Fig. 2). La palabra límbico significa borde. Originalmente, el término límbico se utilizaba para describir las estructuras del borde en torno a las regiones basales del cerebro, pero ahora el término límbico se ha extendido para referirse a todos los circuitos neuronales que controlan la conducta emocional y los impulsos motivacionales¹.

Una parte importante del sistema límbico es el hipotálamo, con las estructuras relacionadas con él. Además de su papel en el control de la conducta, estas áreas controlan muchas condiciones internas del organismo, como la temperatura corporal, la osmolaridad de los líquidos corporales, y el impulso de comer, beber y controlar el peso corporal. Estas funciones internas se denominan en conjunto funciones vegetativas del encéfalo y su control está estrechamente relacionado con la conducta¹.

Las estructuras anatómicas del sistema límbico son un complejo interconectado de elementos de la base del encéfalo. En medio de ellos está el hipotálamo que, desde el punto de vista fisiológico, es una de las piezas centrales del sistema límbico. Y rodeándolo, están las otras estructuras subcorticales del sistema límbico, como el septum, el área paraolfatoria, el

epitálamo, el núcleo anterior del tálamo, partes de los ganglios basales, y **la amígdala**. Muchas de las funciones conductuales puestas en marcha en el hipotálamo y otras estructuras límbicas son mediadas por los núcleos reticulares del tronco encefálico y los núcleos asociados con ellos¹.

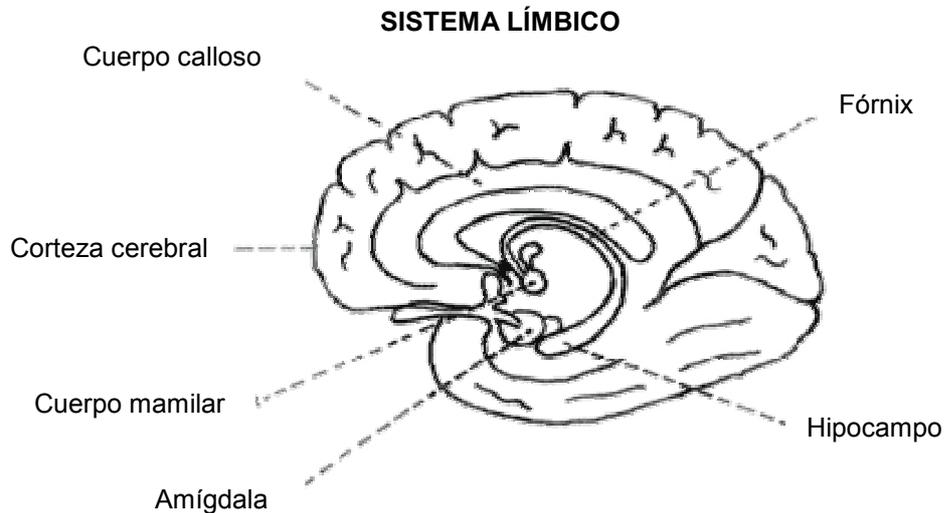


Figura 2. Sistema Límbico¹

1.1.3 Hipocampo

El hipocampo es la parte alargada, medial, de la corteza temporal, que se pliega hacia arriba y hacia adentro para formar la superficie ventral del asta inferior del ventrículo lateral. Un extremo del hipocampo desemboca en los núcleos amigdalinos, y también se fusiona a lo largo de uno de sus bordes con la circunvolución parahipocámpica, que es la corteza de la superficie ventromedial del lóbulo temporal¹.

El hipocampo y las otras estructuras contiguas del lóbulo temporal, denominadas en conjunto formación hipocámpica tiene numerosas conexiones, principalmente indirectas, con muchas porciones de la corteza cerebral, así como con las estructuras básicas del sistema límbico: la amígdala, el hipotálamo, el septum y los tubérculos mamilares. Casi cualquier tipo de experiencia sensorial activa por lo menos parte del hipocampo, y a su vez el hipocampo distribuye muchas señales eferentes al tálamo anterior, al hipotálamo y a otras partes del sistema límbico. Por tanto, el hipocampo es un canal adicional a través del cual las señales sensoriales que penetran pueden

conducir a reacciones conductuales apropiadas pero con propósitos diferentes. La estimulación de diferentes áreas del hipocampo puede causar casi cualquier patrón de conducta, como rabia, pasividad o impulso sexual excesivo¹.

Otra característica del hipocampo es que es hiperexcitable; por ejemplo estímulos eléctricos débiles pueden causar crisis epilépticas localizadas en las propias zonas hipocámpicas, que persisten muchos segundos después de la terminación del estímulo, lo que sugiere que el hipocampo quizá produce señales de salida prolongadas incluso en condiciones de funcionamiento normal. Durante las crisis hipocámpicas del ser humano, la persona experimenta diversos efectos psicomotores, como alucinaciones olfatorias, visuales, auditivas, táctiles, y otros tipos de alucinaciones que no pueden suprimirse incluso cuando la persona no ha perdido la conciencia y sabe que las alucinaciones no son reales. Probablemente una de las razones de la hiperexcitabilidad del hipocampo es que tiene un tipo de corteza diferente de la del resto del cerebro, con sólo tres capas de células nerviosas en algunas partes, en vez de las seis capas que se encuentran en otras zonas¹.

1.1.4. Amígdala

La amígdala es un complejo de núcleos situado inmediatamente por debajo de la corteza del polo medial anterior de cada lóbulo temporal. Tiene abundantes conexiones bidireccionales con el hipotálamo, así como con otras áreas contiguas al sistema límbico¹.

En animales inferiores, la amígdala está implicada en gran medida en los estímulos olfatorios y sus interrelaciones con el sistema límbico. La amígdala recibe señales neuronales de todas las porciones de la corteza límbica, así como de la neocorteza de los lóbulos temporal, parietal y occipital, especialmente de las áreas de asociación auditiva y visual. Debido a estas múltiples conexiones, la amígdala se ha denominado la “ventana” a través de la cual el sistema límbico contempla la situación de la persona en el mundo. A su vez, la amígdala transmite señales: 1) de nuevo a las mismas áreas de la corteza; 2) al hipocampo; 3) al septum; 4) al tálamo, y 5) especialmente al hipotálamo¹.

La estimulación de la amígdala puede causar diferentes tipos de movimiento involuntario. Estos comprenden: 1) movimientos tónicos, como elevar la cabeza o flexionar el cuerpo; 2) movimientos de giro; 3) ocasionalmente movimientos clónicos rítmicos, y 4) diferentes tipos de movimientos asociados con el olfateo y el comer, como lamerse, masticar y deglutir¹.

Además, la estimulación de ciertos núcleos amigdalinos puede originar, a su vez, patrones de cólera, huida, castigo y miedo. Y la estimulación de otros núcleos puede dar reacciones de recompensa y placer¹.

La amígdala parece ser un área de conciencia conductual que opera a un nivel semiconsciente. También parece proyectar al sistema límbico la situación actual de la persona en relación con el entorno y los pensamientos. Basándose en esta información, se cree que la amígdala ayuda a configurar el patrón adecuado de respuestas conductuales para cada ocasión¹.

1.1.5 Formación reticular

La formación reticular esta formada por un conjunto de neuronas (difusamente repartidas o agrupadas en núcleos) y por fibras. Se extiende por el diencéfalo, el mesencéfalo, la protuberancia y el bulbo raquídeo² (Fig. 3).

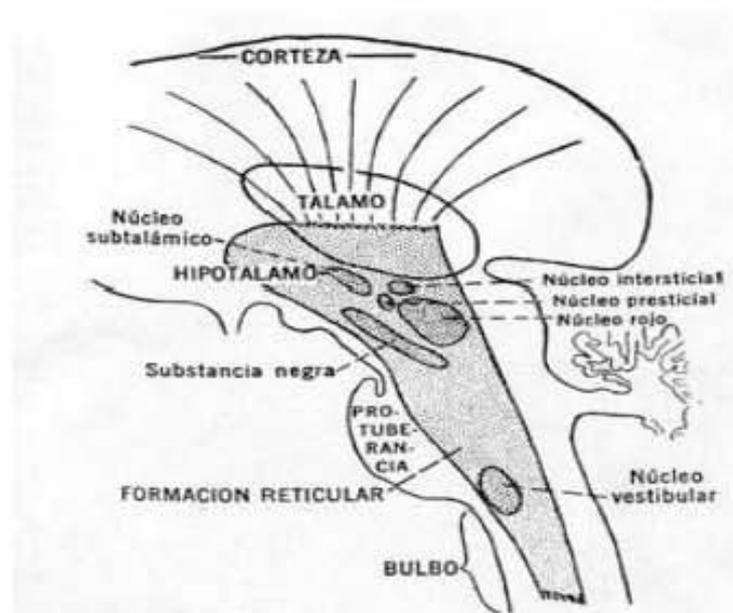


Figura 3. Formación Reticular¹

Interviene en funciones imprescindibles para el mantenimiento de la vida tales como la función respiratoria, la función cardiovascular y la función gastrointestinal. Interviene también en el sostén del cuerpo contra la gravedad, los movimientos oculares y muchos movimientos estereotipados del cuerpo como los de rotación, elevación y flexión de la cabeza y del cuerpo. También tiene responsabilidad en el estado normal de vigilia del cerebro y de la activación selectiva de zonas específicas de la corteza cerebral lo que permite dirigir la atención en diversos campos de actividad mental, influyendo así en la vigilia, el sueño y el coma².

1.1.6 Núcleo Pedúnculo Pontino (PPT)

El PPT está situado en el tegmento mesopontino dorsolateral, contiene un grupo prominente de neuronas colinérgicas, con amplias proyecciones al tallo cerebral y al cerebro frontal. Recientemente, estudios farmacológicos han demostrado que el neurotransmisor GABA está involucrado en diferentes partes del cerebro en la regulación del ciclo sueño-vigilia, específicamente se ha descrito que el GABA en el PPT está involucrado en la regulación del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR)^{3,4, 5}.

1.1.7 Núcleo Profundo Mesencefálico (NPM)

El NPM está localizado en la región reticular larga del cerebro medio entre el colículo superior, la sustancia nigra compacta y el cuerpo geniculado medial. Se considera que está envuelto en diferentes funciones incluyendo nocicepción, regulación de la presión arterial y control del ritmo cardiaco. Las células del NPM están envueltas en diferentes funciones como fenómenos convulsivantes, movimientos oculares, o locomoción, también ha sido relacionada con la actividad de células de la sustancia nigra^{6, 7, 8}.

1.2 Bases moleculares de la comunicación neuronal

Los elementos estructurales y funcionales del sistema nervioso son las neuronas, células especializadas en el manejo de la información. Las neuronas tienen como principal característica la excitabilidad. Son células dotadas de múltiples prolongaciones ramificadas, llamadas dendritas, por las que reciben información, y de una prolongación larga, llamada axón, que se ramifica y la conecta hacia otras neuronas (Fig. 4). Podemos calcular que una neurona recibe información directa de varios miles de neuronas y envía información a otras tantas. El número de neuronas de un cerebro humano probablemente se sitúe por los 100 000 millones¹. Es así que la unidad fundamental del cerebro es la *neurona* desde el punto de vista estructural, y el contacto entre neuronas desde el punto de vista informacional. Este proceso de comunicación neuronal se lleva a cabo en lugares especializados denominados *sinapsis*⁹.

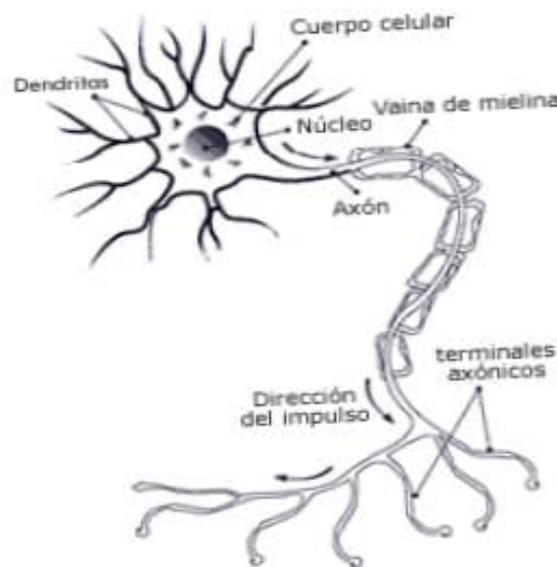


Figura 4. Neurona⁹

Las neuronas del cerebro se comunican entre sí liberando pequeñas cantidades de sustancias. Este mensajero químico modifica la actividad eléctrica de las neuronas mediante su unión específica a receptores localizados en la superficie neuronal. Ello da como resultado cambios funcionales en las neuronas, que pueden ser transmitidos a las neuronas vecinas. Dentro de la compleja maquinaria sináptica es de destacar el papel central desempeñado por los receptores. Las actividades de ciertas sustancias endógenas en las

sinapsis están mediadas por dos tipos de receptores: ionotrópicos, que forman canales iónicos y permiten el paso de ciertos iones a través de la membrana plasmática, y metabotrópicos, que se encuentran asociados a proteínas G y ejercen una acción moduladora sobre la transmisión sináptica. La importancia del estudio de las sinapsis y, especialmente, la de los receptores en la señalización neuronal, estriba en que la mayoría de los fármacos de importancia clínica a nivel central, tales como analgésicos, anestésicos, ansiolíticos, anticonvulsivos, etc., o en general, las farmacoterapias que se emplean en el tratamiento de determinadas enfermedades neurológicas, se basan en los mecanismos de acción de los propios receptores de dichas sustancias endógenas⁹.

1.2.1 Sinapsis

Una sinapsis está constituida por la terminal de una neurona llamada emisora, la parte de la membrana de otra neurona, llamada receptora con la que casi hace contacto la terminal, y una señal que es la responsable de la transmisión de la información. Esa señal está conformada por pequeñas moléculas químicas o sustancias que reciben el nombre de *neurotransmisores*. Se conocen varias familias de ellos, que se pueden agrupar en tres: aminas biológicas como la acetilcolina, la serotonina o la dopamina (precursor de adrenalina y noradrenalina); algunos aminoácidos como el ácido gamma-aminobutírico, la glicina o el ácido glutámico; y péptidos o cadenas de aminoácidos como las encefalinas y porciones de hormonas. Estos neurotransmisores son sustancias químicas ubicuas en la naturaleza, pero sólo en el tejido nervioso se convierten en moléculas **semioquímicas**, es decir, en moléculas que acarrean información. La neurona que envía la información está capacitada para sintetizar y liberar al neurotransmisor a un espacio que facilita que el trasmisor llegue a sitios especializados de la membrana de la neurona que recibe la señal y que reconocen al trasmisor y decodifican el mensaje: se trata de los receptores sinápticos. Estas estructuras son proteínas de la membrana que funcionan como minúsculas cerraduras que admiten sólo una forma de llave para accionar la cerradura. La llave-neurotransmisor sólo puede

tener dos efectos inmediatos sobre la cerradura-receptor: o la neurona receptora se excita y trasmite la información o se inhibe y la bloquea⁹.

En la red de comunicaciones que es nuestro sistema nervioso, las señales eléctricas producidas por las neuronas llevan y traen información entre ellas, así como desde y hacia otros grupos celulares del cuerpo, como glándulas y músculo. Las neuronas son independientes unas de otras y la zona en que se produce el contacto que permite que la señal eléctrica pase de una célula a otra es por tanto lo que hemos denominado la sinapsis. Cuando el impulso eléctrico, llamado *potencial de acción*, llega a un terminal sináptico, provoca allí la liberación de un neurotransmisor, el cual en menos de un milésimo de segundo genera una señal eléctrica en la célula receptora o post-sináptica. Si la señal post-sináptica alcanza un tamaño mínimo, continuará su viaje hasta la siguiente sinapsis. Es esta cadena de comunicaciones la que hace posible que procesemos la información sensorial que recogemos del exterior y la de nuestro mundo interno, generando desde respuestas motrices hasta fenómenos más complejos como el aprendizaje, la imaginación, la memoria y la conciencia que es nuestro sistema nervioso, son las señales eléctricas producidas por las neuronas. Las sinapsis son las uniones que se producen entre el axón de una neurona y las dendritas o cuerpo celular de otra neurona. La actividad de una influye en las neuronas con las que está conectada. Puede ser química o eléctrica y excitadora o inhibidora⁹.

Existen dos tipos de sinapsis, eléctricas y químicas que difieren en su estructura y en la forma en que transmiten el impulso nervioso. *Sinapsis eléctricas*: corresponden a uniones de comunicación entre las membranas plasmáticas de los terminales presináptico y postsinápticos, las que al adoptar la configuración abierta permiten el libre flujo de iones desde el citoplasma del terminal presináptico hacia el citoplasma del terminal postsináptico. *Sinapsis químicas*: se caracterizan porque las membranas de los terminales presináptico y postsináptico están engrosadas y las separa la hendidura sináptica, espacio intercelular de 20-30 nm de ancho. El terminal presináptico se caracteriza por contener mitocondrias y abundantes vesículas sinápticas, que son organelos revestidos de membrana que contienen neurotransmisores⁹.

Al fusionarse las vesículas sinápticas con la membrana se libera el neurotransmisor que se une a receptores específicos localizados en la membrana post-sináptica, en la cuál se concentran canales para cationes activados por ligandos. Al llegar el impulso nervioso al terminal presináptico se induce: la apertura de los canales para calcio sensibles a voltaje, el subir el calcio intracelular se activa la exocitosis de las vesículas sinápticas que liberan al neurotransmisor hacia la hendidura sináptica. La unión del neurotransmisor con su receptor induce en la membrana postsináptica la apertura de los canales para cationes activados por ligandos determinando cambios en la permeabilidad de la membrana que pueden: inducir la depolarización de la membrana postsináptica: sinapsis excitadoras; o hiperpolarizar a la membrana postsináptica: sinapsis inhibitoras⁹ (Fig. 5).

La sumatoria de los impulsos excitadores e inhibidores que llegan por todas las sinapsis que se relacionan con cada neurona (1000 a 200 000) determina si se produce o no la descarga del potencial de acción por el axón de esa neurona⁹.

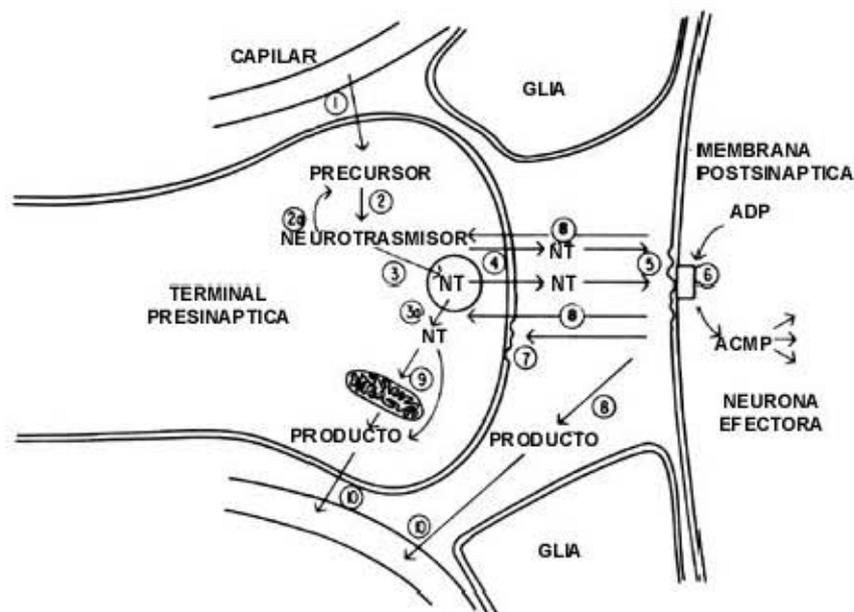


Figura 5. Sinapsis y comunicación entre neuronas⁹.

La transmisión de información a través de las neuronas sucede gracias a los potenciales eléctricos que recorren la membrana y que obedecen a la propagación de ondas eléctricas que se forman por la salida o entrada, a través

de la membrana, de iones de sodio, potasio y cloro que están cargados eléctricamente, con lo cual la célula y sus prolongaciones se comportan como un cable. El cerebro, dotado de esta maquinaria fisicoquímica de información cuyas propiedades son similares en todos sus sectores, tiene una arquitectura que organiza sus elementos neuronales de manera intrincada y exquisita, bastante distinta en sus partes. Los diferentes tipos de neuronas están organizados ya sea en cúmulos celulares o en capas. En suma, las neuronas se agrupan en sistemas multineuronales perfectamente estructurados en su arreglo espacial, específicamente interconectados por dendritas y axones y particularmente definidos por la naturaleza química de sus contactos sinápticos⁹.

A pesar de lo extraordinario de toda esta información, aún no se sabe con exactitud cómo es que la actividad cerebral, o bien cuál es esa actividad específica. Si se tratara de definir la función del cerebro en una frase se diría que es la de recibir, procesar, almacenar y enviar información al medio ambiente. Es decir, concebido como órgano mental, el cerebro percibe, memoriza, decide y actúa por medio de la conducta⁹.

1.2.2. Neurotransmisión GABAérgica y glutamatérgica

El sistema nervioso contiene gran cantidad de aminoácidos extremadamente activos para lograr el funcionamiento neuronal. Durante muchos años no se sabía si estas sustancias eran activas en sí o sólo representaban precursores de proteínas (recordemos que todas las proteínas están hechas de aminoácidos) (Fig. 6). Ahora sabemos que estas pequeñas moléculas son las principales responsables de la conducción en el sistema nervioso¹⁰.

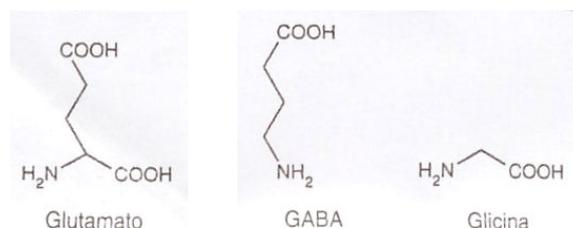


Figura 6. Neurotransmisores: GABA, Glicina y Glutamato¹⁰

Sistema GABAérgico

El GABA es el neurotransmisor inhibitor predominante del SNC. En los años 50 y gracias a técnicas neuroquímicas más sensibles, se observó que el GABA no sólo estaba en el cerebro, sino que éste era el órgano que más GABA contenía. Las neuronas GABAérgicas muestran una distribución difusa, lo que sugiere que funcionan como interneuronas. Sin embargo, existen algunas vías GABAérgicas algo más largas como la estriadonigral y la cerebello-vestibular¹⁰.

El GABA es sintetizado a partir del ácido glutámico por la glutamato descarboxilasa (GAD) y degradado por la enzima GABA- transaminasa (GAT) mediante una reacción de transaminación. Existen tres tipos de receptores GABAérgicos: GABA_A, GABA_B, y GABA_C. El receptor GABA_A es una proteína postsináptica compleja acoplado a un canal de cloro con sitios de reconocimiento para el GABA, para benzodiazepinas (BZD), barbitúricos, esteroides y picrotoxina. De estas sustancias algunas producen sueño (los barbitúricos) o se utilizan como ansiolíticos (las benzodiazepinas), en buena parte porque favorecen la transmisión GABAérgica. Sin embargo, existen numerosas sustancias que interactúan con receptores GABAérgicos, las cuales interfieren con su funcionamiento produciendo un aumento de la excitabilidad cerebral hasta el punto de producir crisis convulsivas¹⁰ (Fig. 7).

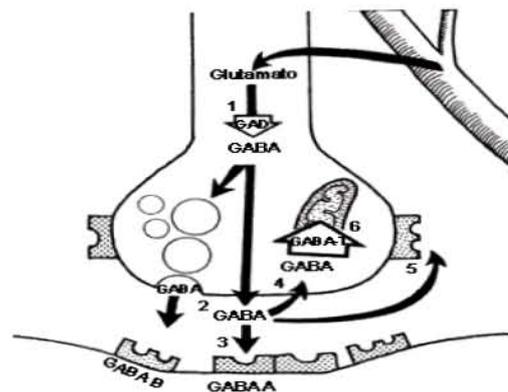


FIGURA 7. El GABA se sintetiza a partir del glutamato a través de la GAD (1). El GABA puede liberarse hacia el espacio sináptico directamente o desde almacenes vesiculares (2). Una vez fuera de la terminal, el GABA puede ocupar receptores postsinápticos (3), los cuales se han clasificado en tipo A (GABA_A) o el tipo B (GABA_B). El aminoácido puede recaptarse (4), ocupar autorreceptores (AR), que usualmente son tipo B (5) o metabolizarse por la GABA-T (6)¹⁰.

Se han descrito esencialmente dos tipos de receptor del GABA: el GABA_A y el GABA_B. El agonista específico para el primero es el muscimol, y el antagonista la bicuculina. Para el receptor GABA_B, el agonista específico es el baclofén y el antagonista el flaclofén (o el saclofén). La ocupación del receptor GABA_A por un agonista produce aumento de la permeabilidad de la membrana al cloro. En cambio, la activación del receptor GABA_B da lugar a la activación de segundos mensajeros de la familia de las proteínas G_i¹⁰.

El otro neurotransmisor inhibitorio de importancia, particularmente en el tallo cerebral y la médula espinal, es la *glicina*. Su efecto es similar al del GABA: hiperpolarización (inhibición) por aumento de la conductancia al cloro. Esta inhibición puede ser antagonizada por la estricnina, otra sustancia convulsivante¹⁰.

Sistema de los aminoácidos excitadores

Estas sustancias se encuentran particularmente concentradas en el sistema nervioso, y ejercen potentes efectos excitadores sobre la actividad neuronal. Durante la última década se ha producido mucha información relativa a la neurobiología de la transmisión glutamatérgica, gracias al desarrollo de sustancias con propiedades agonistas y antagonistas de los diferentes subtipos de receptor del glutamato¹⁰.

Hasta la fecha, se han descrito al menos cinco subtipos de receptor del glutamato. Tres de ellos se han definido por los efectos excitadores (despolarizantes) de agonistas específicos: N-metil-D-aspartato (NMDA) y por los de sus antagonistas específicos. Un cuarto receptor, el del l-2-amino-4-fosfonobutirato (AP₄) que parece representar a un autorreceptor (AR) inhibitorio. Y un quinto receptor, activado por el ácido transamino-ciclo pentano-dicarboxílico y que constituye un receptor metabotrópico, pues tiene efectos sobre el metabolismo de los derivados fosfatados intracelulares¹⁰.

Las técnicas modernas de neurobiología molecular han permitido obtener información sobre las características fisicoquímicas del receptor así como de sus interacciones con otras sustancias. Se ha visto, por ejemplo, que la glicina, aminoácido con propiedades inhibitorias, a concentraciones muy

bajas, *facilita* los efectos del NMDA (excitadores), y que fármacos como la ketamina (agente anestésico) y la fenciclidina (fármacos que produce alucinaciones) son antagonistas del receptor al NMDA. Los receptores a aminoácidos excitadores son complejos y operan como canales permeables a los iones de Ca^{2+} y Na^+ . El incremento anormal en la permeabilidad a estos iones es causa de descarga epiléptica¹⁰.

Dada la ubicuidad de los receptores del glutamato, ha resultado difícil establecer con precisión vías nerviosas que utilicen preferentemente a este aminoácido como neurotransmisor; pero existen pruebas de que gran número de fibras cuya estimulación eléctrica produce excitación a nivel de las estructuras a las que proyecta, son de carácter glutamatérgico (Fig. 8). El aspartato, otro aminoácido relacionado, podría tener también sus vías específicas, así como efectos particulares y separables de los del glutamato¹⁰.

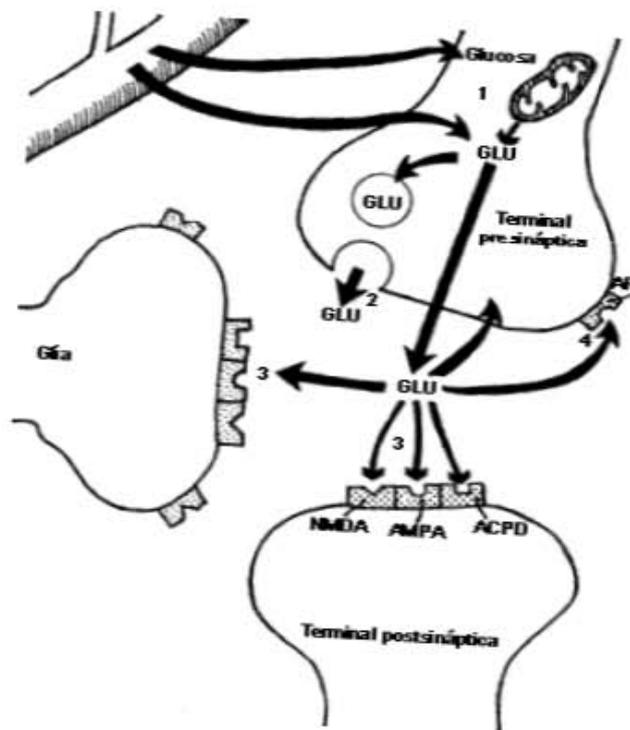


FIGURA 8. El glutamato (GLU), aminoácido excitador por excelencia, se capta directamente de la sangre y el espacio extracelular o a través de glucosa y la conversión metabólica en la terminal presináptica (1). Desde allí puede liberarse directamente o desde almacenes vesiculares (2). El GLU puede ocupar receptores postsinápticos neuronales o gliales (3) de tres tipos diferentes, denominados de acuerdo con la sustancia que interactúa con ellos en forma más específica: los receptores al NMDA (N-metil-D-aspartato), los no NMDA (sensibles al AMPA) y los metabotrópicos, sensibles al ácido transamino-ciclo pentano-dicarboxílico (ACPD). El aminoácido también podría interactuar con autorreceptores (AR) (4)¹⁰.

1.3 **Epilepsia**

Etiológicamente, la palabra epilepsia deriva del verbo griego *epilamvanein* que significa “ser sobrecogido bruscamente”¹¹. La epilepsia no se considera una enfermedad específica o síndrome único, sino una amplia categoría de síntomas complejos y episodios paroxísticos recurrentes asociados a una disfunción cerebral manifestada por alteraciones estereotipadas de la conducta.

La epilepsia es un trastorno muy común que afecta del 0.5 al 1% de la población. Habitualmente no existe ninguna causa reconocible, aunque a menudo se desarrolla después de una lesión cerebral, como traumatismo, infección o neoplasia u otros tipos de enfermedades neurológicas¹⁰.

En padecimientos como la epilepsia, la comunicación entre sinapsis neuronal está alterada, de tal manera que cierta cantidad de neuronas ejercen una sincronización en la excitabilidad cerebral, lo cual se manifiesta algunas veces como crisis convulsivas generalizadas. La epilepsia se debe a la pérdida de actividad neuronal principalmente inhibitoria y al descontrol entre el balance neuronal excitatorio e inhibitorio, la excitación sobrepasa a la inhibición y por lo tanto hay mayor susceptibilidad de que las neuronas descarguen de manera exagerada, recurrente, breve y no predecible. Los síntomas concretos producidos dependen de la función de la región cerebral afectada. La afectación de la corteza motora produce convulsiones; la implicación del hipotálamo, descargas autónomas periféricas, y la afectación de la formación reticular en el tronco cerebral superior pérdida de la conciencia¹⁰.

La Comisión para la Clasificación y Terminología de la Liga Internacional contra la Epilepsia clasificó las crisis epilépticas como se muestra en la Tabla I 12, 13. **Las crisis parciales o focales** son aquellas manifestaciones clínicas que inicialmente indican activación local de un grupo de neuronas. Se subdividen en convulsiones parciales con síntomas elementales (generalmente sin pérdida de la conciencia); convulsiones parciales con síntomas complejos (generalmente con pérdida de la conciencia); y convulsiones parciales secundariamente generalizadas (cuando se presenta la propagación de la descarga). **Las crisis generalizadas** son aquellas que usualmente consisten de la pérdida inicial de la conciencia asociadas a cambios motores en los

cuales el patrón del EEG es bilateral, completamente sincronizado y simétrico sobre los dos hemisferios cerebrales^{12, 13}.

La crisis de ausencia se caracteriza por un cese violento de las actividades motoras y una mirada fija cuya duración puede ser de 30 segundos, seguidas por el regreso a la conducta normal. **La crisis mioclónica** consiste de una contracción breve de los músculos, la cual puede localizarse en partes específicas del cuerpo, en una extremidad o en todo el cuerpo. **La crisis tónica** se caracteriza por una contracción muscular sostenida, mientras que la crisis clónica consiste de contracción muscular alternada con periodos de relajación muscular. **La crisis tónico-clónica** usualmente afecta varios grupos de músculos del cuerpo e involucra la pérdida de conciencia^{12, 13}.

Tabla 1. Clasificación de las crisis epilépticas^{12,13}

CRISIS PARCIALES	
Crisis parciales simples	
<i>Con síntomas motores</i>	
	Focales sin progresión
	Jacksonianas
	Posturales
	Fonatorias
<i>Con síntomas sensoriales</i>	
	Somatosensoriales
	Visuales
	Auditivas
	Olfatorias
	Gustativas
	Vértigo
	<i>Con signos o síntomas vegetativos</i>
	<i>Con síntomas psicicos</i>
	Fenómenos "deja"
	Miedo
Crisis parciales complejas	
	<i>Con inicio parcial simple</i>
	<i>Con trastorno inicial de la consciencia</i>
Crisis parciales con generalización secundaria	
	<i>Inicio como crisis parcial simple</i>
	<i>Inicio como crisis parcial compleja</i>
CRISIS GENERALIZADAS	
Crisis de ausencia	
	<u>Típicas</u>
	Simple con trastorno de la consciencia
	Con automatismos
	Con componente mioclónico
	Con componente tónico
	Con componente atónico
	Con componente vegetativo
	<u>Atípicas</u>
	Crisis mioclónicas
	Crisis tónicas
	Crisis tónico-clónicas
	Crisis atónicas
	Espasmos infantiles

1.3.1 Farmacología de la epilepsia

Con tratamiento farmacológico óptimo, la epilepsia se controla completamente en el 70% de los pacientes, pero un 30% continúa presentando crisis a intervalos de un mes o menos, que afectan de forma importante su vida y su trabajo¹⁴.

Los fármacos antiepilépticos (FAEs) tiene un estrecho rango terapéutico, y los niveles plasmáticos deben encontrarse por encima de la concentración mínima terapéutica y por debajo de la concentración máxima tolerable, por lo que en muchos casos será preciso monitorizar los niveles de los FAEs con controles periódicos, generalmente en caso de falta de respuesta o ante la presencia de síntomas o signos de intoxicación. Dado que muchos de estos fármacos se transportan unidos a proteínas y tienen metabolismo hepático, habrá que tener precauciones especiales en los enfermos con politerapia o co-terapia con otros fármacos, en aras de prevenir interacciones farmacocinéticas, sobre todo a nivel de desplazamiento de los FAEs de las proteínas plasmáticas (aumento de síntomas de toxicidad) y a nivel de los procesos de biotransformación hepática y aclaramiento hepático (la mayoría) o renal (sobre todo gabapentina). Hay FAEs como la carbamacepina o lamotrigina que provocan inducción hepática, pudiendo disminuir los niveles de otros FAEs o de sí misma (autoinducción). Especial cuidado se debe considerar a la hora de ajustar los niveles de los FAEs, pues en muchos casos la cinética no es lineal (el ejemplo típico es la fenitoína), y así evitar intoxicaciones indeseables¹⁰.

Dos mecanismos principales son importantes en la acción de los anticonvulsivantes: Intensificación de la acción de GABA e inhibición de la función de los canales de sodio. Otros mecanismos que pueden intervenir con algunos fármacos son la inhibición de los canales de calcio y de los receptores de glutamato. Algunos fármacos recientes se han diseñado para aumentar la función del GABA de distintos modos¹⁰. Ver tabla II

Tabla II. Propiedades de los principales FAEs¹⁰

FÁRMACO	MECANISMOS CELULARES	EFEECTO SOBRE LA DESCARGA	INDICACIONES PRINCIPALES	PRINCIPALES EFECTOS INDESEADOS
Fenitoína	Bloqueo dependiente del uso de los canales de Na ⁺	Inhibe la diseminación	Todos los tipos excepto crisis de ausencia	Ataxia, vértigo, hipertrofia gingival, hirsutismo, anemia megaloblástica, malformaciones fetales, reacciones de hipersensibilidad.
Carbamazepina	Bloqueo dependiente del uso de los canales de Na ⁺	Inhibe la diseminación	Todos los tipos excepto crisis de ausencia. Especialmente epilepsia del lóbulo temporal	Sedación, ataxia, visión borrosa, retención acuosa, reacciones de hipersensibilidad, leucopenia, insuficiencia hepática (raro)
Valproato	Incierto. Débil efecto sobre la GABA-transaminasa y los canales de Na ⁺	Desconocido	FAE más utilizados	Generalmente menos que con otros fármacos. Náuseas, pérdida de pelo, aumento de peso, malformaciones fetales.
Etosuximida	Inhibe los canales de Ca ²⁺ de tipo T	Inhibe la descarga talámica "punta y onda" 3/seg	Crisis de ausencia. Puede exacerbar las crisis tónico-clónicas	Naúseas, anorexia, cambios de humor, cefalea.
Fenobarbital	Intensifica la acción del GABA	Inhibe el inicio de la descarga	Todos los tipos excepto crisis de ausencia	Sedación, depresión.
Benzodiazepinas: por ejemplo, clorazepam, clobazam, diazepam	Intensifica la acción del GABA	Inhibe la diseminación	Todos los tipos. Diazepam i.v. utilizado para el control del status epiléptico	Sedación, síndrome de abstinencia
Vigabatrina	Inhibe la GABA-transaminasa. Aumenta el contenido cerebral de GABA	Inhibe la diseminación	Todos los tipos. Al parecer eficaz en pacientes resistentes a otros fármacos.	Sedación, cambios del comportamiento y humor (ocasionalmente psicosis)

Los principales FAEs en uso¹⁵ son:

- **Fenitoína:** Es el tratamiento de elección para crisis generalizadas tónico-clónicas o para crisis parciales secundariamente generalizadas. Es de los más utilizados y de precio accesible. En ocasiones provoca irritación gástrica, por lo que se sugiere administrar con o después de las comidas. También es utilizada como antiarrítmico.
- **Carbamazepina:** es el fármaco de elección en casos de epilepsias parciales, y una opción en casos de epilepsias generalizadas convulsivas. Se debe iniciar la administración con dosis bajas e ir aumentándolas progresivamente para minimizar los efectos colaterales. Puede agravar las crisis tipo ausencia o las mioclonias.
- **Valproato:** No relacionado químicamente con otros FAEs, pero es de los más utilizados, pues es eficaz en muchos tipos de crisis, ya sea solo o asociado a algún otro fármaco. Es necesario tener cuidado en niños menores de 11 años o en presencia de otra medicación antiepiléptica, por el peligro de daño hepático.

- Etosuximida: Es el fármaco de elección para tratar las ausencias. Al principio el tratamiento puede provocar irritación gástrica (náusea y vómito) y somnolencia, pero estos efectos van desapareciendo con el tiempo. Algunos pacientes desarrollan problemas hematológicos (disminución en el número de leucocitos) que desaparecen cuando se suspende el tratamiento. Puede agravar las crisis mioclónicas y tónico-clónicas.

Los FAE secundarios incluyen¹⁵:

- Fenobarbital: Este barbitúrico es útil en casos de epilepsias generalizadas de inicio o secundarias a crisis parciales. Al inicio del tratamiento produce sedación, somnolencia; en niños, hiperactividad y trastornos de la atención.
- Varias benzodiazepinas, por ejemplo: clorazepam, el cual no es un fármaco de primera elección, en virtud de sus efectos colaterales (somnolencia, ataxia, mareo y a que desarrolla tolerancia rápidamente); y el diazepam se usa para tratar el *status* epiléptico.

Los nuevos FAE son¹⁵:

- Vigabatrin: Puede ser una opción para crisis parciales que no responden a otros medicamentos. Una pequeña porción de sujetos desarrolla problemas psiquiátricos (irritabilidad, depresión, agresividad, etc.) que requieren la suspensión del tratamiento.
- Lamotrigina: Se utiliza en casos de epilepsias parciales rebeldes a los medicamentos de primera elección y los principales efectos secundarios son reacciones de hipersensibilidad.
- Felbamato: Tiene mecanismo de acción desconocido; perfil terapéutico amplio; y su uso es limitado a los casos refractarios, debido al riesgo de reacciones de hipersensibilidad graves.

- Gabapentin: Es un medicamento útil en casos de epilepsias parciales que no responden a los fármacos de primera elección, la carbamazepina o la fenitoína. Tiene mecanismo de acción desconocido; absorción saturable, por lo tanto, seguridad con sobredosis; y relativamente libre de efectos secundarios. Es bien tolerado, particularmente por sujetos de edad avanzada
- Tiagabina: Inhibidor de la recaptación de GABA; los efectos secundarios son vértigo y confusión; y todavía no es completamente evaluado.
- Topiramato: Es un fármaco útil en epilepsias parciales resistentes a otros medicamentos. Algunos pacientes desarrollan cálculos renales.

1.3.2 Epilepsia y sueño

En 1942, Gibbs y Gibbs¹⁶ introducen el registro EEG de sueño nocturno como procedimientos diagnósticos en el estudio de la epilepsia, debido a la influencia del sueño en la activación de las descargas paroxísticas y generalizadas.

En 1962, Janz¹⁷ describe una correlación entre crisis epilépticas y ritmo vigilia-sueño e identifica 3 tipos de epilepsias: epilepsia del despertar, representada por el “pequeño mal” y por las mioclonías generalizadas, epilepsia del sueño de origen temporal y epilepsia “difusa” de origen orgánico, caracterizada por crisis de aparición tanto en vigilia como durante el sueño¹⁸.

Las observaciones de estos y otros autores, basadas en la influencia que los dos tipos de sueño – sueño de ondas lentas (SOL) y sueño de movimientos oculares rápidos (sueño MOR)- ejercen sobre las descargas epilépticas, les permite demostrar que el SOL facilita las descargas paroxísticas focales, mientras que el MOR las atenúa. Por otra parte, las fases intermedias del sueño, o períodos de transición, desempeñan un papel importante en la activación de las epilepsias generalizadas¹⁸.

Las descargas focales se activan y propagan a regiones adyacentes durante el SOL, incluso pueden propagarse a regiones homólogas contralaterales¹⁸.

Las crisis epilépticas provocan una perturbación del sueño nocturno, consistente en un aumento del número de despertares, fragmentación y cambios de fases frecuentes e inestabilidad de los ciclos, un aumento porcentual de las fases de sueño ligero en detrimento del SOL y del sueño MOR y un retraso de la aparición del primer sueño MOR¹⁸.

Todos los tipos de crisis tienen el potencial de efectos negativos en el sueño. Adicionalmente, medicamentos usados para la epilepsia pueden afectar el sueño, a veces negativamente pero en unos pocos casos en una manera potencialmente benéfica¹⁸.

El sueño es importante para la salud general de todos, pero es particularmente esencial para individuos con epilepsia. Mientras las personas duermen, sus cerebros atraviesan cinco etapas de sueño, cuatro son etapas SOL y una de sueño MOR (Fig. 9). Un ciclo completo de sueño dura aproximadamente de 90 a 100 minutos. Durante una noche de sueño promedio, una persona experimentará aproximadamente 5 ciclos de sueño.

Etapas 1: En esta etapa del sueño, los ojos se mueven errática y rápidamente y se le considera como un límite entre el estado de vigilia y el dormir. La presión sanguínea sube, la respiración y el ritmo cardiaco se aceleran y llegan a ser erráticos. Sus músculos voluntarios se encuentran paralizados. Esta etapa es la más restauradora del sueño. Es también la etapa en donde ocurren la mayoría de los sueños.

Etapas 2: Se entra en un sueño liviano. Esta etapa es caracterizada por relajación de los músculos y ritmo cardiaco bajo. El cuerpo se prepara para entrar en el sueño profundo.

Etapas 3 y 4: En estas dos etapas se involucran períodos de sueño profundo, siendo más intensivo en la etapa 4 que en la 3. La temperatura del cuerpo baja y los músculos se relajan. Se encuentra completamente dormido.

Etapas 5: La etapa final del ciclo de sueño se conoce como el sueño MOR debido a los movimientos rápidos de los ojos que ocurren durante esta etapa. Durante el sueño MOR, otros cambios físicos se llevan a cabo: el ritmo de la respiración se incrementa, el corazón late más rápido, y los músculos de las

extremidades no se mueven. Esta es la etapa del sueño durante la cual las personas tienen los sueños más vívidos¹⁸.

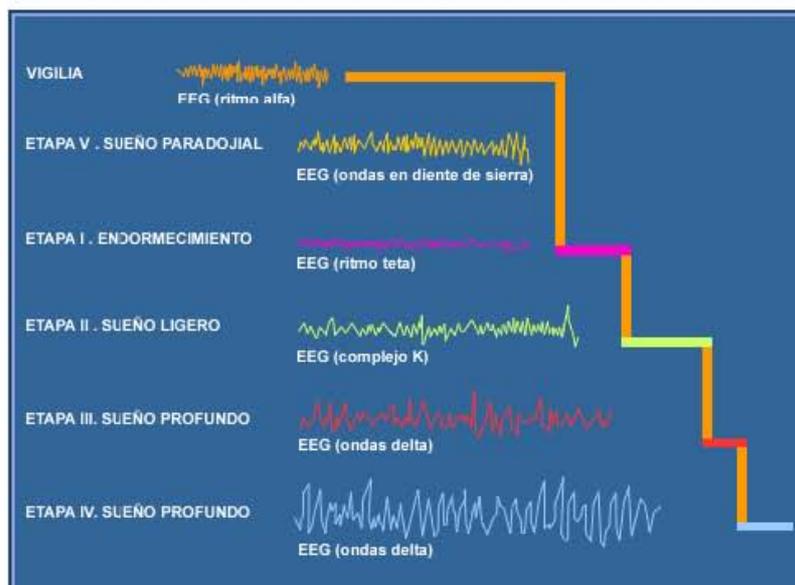


Figura 9. Onda cerebrales durante un ciclo de sueño

1.3.3. Electroencefalograma (EEG)

La transmisión de una célula nerviosa a otra se hace mediante un proceso electroquímico y considerando que las células del cerebro se comunican produciendo pequeños impulsos eléctricos, esta actividad eléctrica se puede detectar por medio del EEG (Fig. 10). Además, también se ha aludido que la actividad eléctrica anómala durante una crisis puede detectarse mediante dicho EEG usando electrodos distribuidos sobre la superficie del cuero cabelludo. Pueden reconocerse varios tipos de crisis según la naturaleza y distribución de la descarga anómala. Por tanto, el EEG, es una exploración neurofisiológica que se basa en el registro de la actividad bioeléctrica cerebral en condiciones basales de reposo, en vigilia o sueño, y durante diversas activaciones (habitualmente hiperventilación y foto estimulación) e incluso en los patrones anormales de actividad eléctrica asociados con la epilepsia.

Richard Catón (1842-1926), un médico de Liverpool, presentó en 1875 sus primeros hallazgos sobre los fenómenos bioeléctricos en los hemisferios cerebrales de ratones y monos, expuestos por craneotomía. Mientras que Hans Berger (1873-1941) comenzó sus estudios sobre EEG en humanos en 1920.

Actualmente, los riesgos en la aplicación de un EEG son prácticamente inexistentes, excepto en los siguientes casos:

- Enfermedades cardiovasculares graves (insuficiencia cardíaca grave, enfermedades coronarias)
- Hemorragia subaracnoidea.
- Hemorragia intracraneal.
- Enfermedades que producen “disminución de las defensas”. (SIDA, extirpación del bazo, diabéticos, trastornos de la inmunidad).
- Alergia a las aleaciones utilizadas en la fabricación de los electrodos.
- Epilepsia sensible a estímulos luminosos intermitentes.
- Predisposición a reacciones vagales intensas con pérdida de conocimiento.

En estas situaciones, la prueba no está absolutamente contraindicada, aunque se han descrito, en algunos casos, complicaciones (hemorragias, infecciones cutáneas, erosiones en la piel, crisis convulsivas, empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, síncope), que también son posibles aunque muy poco frecuentes en personas aparentemente sanas¹⁷.



Figura 10. Ondas electroencefalográficas

El EEG normal durante la vigilia presenta:

- Actividad de fondo
- Ritmos alfa (α): 8-13 Hz de frecuencia y de alrededor de 50 μ V de amplitud.

- Ritmos mi
- Ritmos beta (β): 14-30 Hz y de amplitud muy baja.
- Actividad theta
- Ritmos rápidos
- Ondas lambda

Los métodos de activación pueden ser:

- Hiperapnea
- Estimulación luminosa intermitente
- Estimulación visual
- Estimulación auditiva
- Estimulación somestésica
- Estimulación nociceptiva

El EEG normal durante el sueño, presenta:

- Grafoelementos específicos del sueño
- Onda aguda al vértex
- Onda aguda positiva occipital
- Huso del sueño
- Complejo K
- Actividad delta del sueño
- Alertamientos

Las indicaciones del EEG son:

- Epilepsia
- Encefalopatía
- Encefalopatía inflamatoria
- Encefalopatía metabólica
- Encefalopatía tóxica
- Encefalopatía connatal
- Encefalopatía hipotóxica
- Coma
- Diagnóstico de muerte encefálica
- Tumores cerebrales y otras lesiones ocupantes del espacio
- Demencia

- Enfermedades degenerativas del SNC
- Enfermedad cardiovascular
- Traumatismo craneoencefálico
- Cefalea
- Vértigo
- Trastornos psiquiátricos

En términos generales, el EEG está indicado en todo fenómeno paroxístico en que se sospeche una causa de origen cerebral y en toda situación de disfunción cerebral, especialmente en fase sintomática.

1.3.4. Modelos experimentales de epilepsia

La epilepsia es uno de los padecimientos que ha generado más modelos experimentales. Tal vez esto se deba a la extraordinaria excitabilidad del cerebro, siendo relativamente fácil hacer que un grupo de neuronas responda en una forma exagerada, paroxística, ante una estimulación intensa. Además estos paroxismos pueden medirse mediante el EEG y directamente colocando finos electrodos en el tejido nervioso²⁰.

Los modelos de inducción de crisis epilépticas mediante agentes convulsivantes son usados para la búsqueda de nuevos antiepilépticos o bien para caracterizar los mecanismos de acción de nuevos fármacos^{21, 22, 23}. Entre las sustancias más utilizadas para la inducción de las crisis convulsivas se encuentran las siguientes: estriquina, N-Metil D-Aspartato, pilocarpina, ácido kaínico, metales, pentilentetrazol (PTZ)²⁴. Los animales con crisis espontáneas y recurrentes crónicas representan un modelo ideal de epilepsia humana. Existen varias cepas de animales con gran susceptibilidad a las crisis epilépticas, pero muchos de estos modelos, por ejemplo ratones y ratas susceptibles a las crisis audiogénicas o babuinos fotosensibles se consideran modelos de epilepsia refleja más que modelos con crisis espontáneas²⁴. Uno de los pocos modelos animales de epilepsia espontánea son los perros epilépticos, modelo que resulta ser útil para el estudio de crisis fármaco-resistentes; este tipo de modelo genético de epilepsia también se presenta en los gatos, aunque éste no ofrece las mismas ventajas en los perros²⁴. En

general, los modelos experimentales se pueden clasificar en químicos, eléctricos o bien en modelos naturales (ver Tabla III)²⁵.

Tabla III. Modelos experimentales para el estudio de la epilepsia²⁵

1.	Crisis parcial simple aguda:
	a) Convulsivantes tópicos (penicilina, bicuculina, picrotóxina y estricnina)
	b) Estimulación eléctrica aguda
	c) Abstinencia al GABA
	d) Implantación cortical o subcortical de metales
	e) Daño criogénico
2.	Crisis parcial simple crónica:
	a) Metales implantados corticalmente (hidróxido de aluminio, cobalto y tungsteno)
	b) Daño criogénico
	c) Inyecciones de anticuerpos a gangliósidos
	d) Epileptogénesis focal sistémica
3.	Crisis parciales complejas:
	a) Ácido kaínico
	b) Tóxina tetánica
	c) Inyección unilateral en el área de tempesta (corteza piiforme) de sustancias como la bicuculina, ácido kaínico, glutamato, aspartato o N-metil-D-aspartato (NMDA)
	d) "Kindling" eléctrico
4.	Crisis generalizadas tónico clónicas:
	a) Modelos naturales (babuinos- papio papio-fotosensible, gerbos mongolianos-meriones unguiculatus- sensibles a generar convulsiones por fotoestimulación o por estrés).
	b) Electrochoques
	c) Convulsivantes químicos (penicilina, picrotóxina y pentilentetrazol)
	d) Desajustes metabólicos (hipoxia, hipoglucemia y uremia)
5.	Crisis de ausencia:
	a) Estimulación talámica
	b) Foco cortical bilateral
	c) Penicilina sistémica
	d) Administración de opioides intraventricularmente
6.	Estado epiléptico:
	a) Pilocarpina
	b) Administración de cobalto-homocisteína
	c) Estimulación recurrente
	d) Ácido kaínico

1.3.5. Foco amigdalino inducido con penicilina

Alexander Fleming en 1928 descubrió la penicilina, mientras estudiaba una variante de la bacteria estafilococos. La penicilina se aisló de un moho del género *Penicillium* (*Penicillium notatum*), el cual se produjo como compuesto terapéutico a partir de 1940²⁶.

La estructura básica de la penicilina consta de un anillo tiazolidina y uno beta-lactámico (Fig. 11). El núcleo beta-lactámico es el requisito estructural para su actividad antibacteriana, la transformación metabólica o alteración química de este núcleo produce la pérdida de esta actividad^{24 y 25}. Existen varias penicilinas naturales, según la composición química del medio de fermentación utilizado para cultivar *Penicillium*. De éstas, la penicilina G (bencilpenicilina) es la que presenta mayor actividad antimicrobiana y es la única penicilina natural utilizada en la clínica^{26,27}.

Este antibiótico es una sustancia que induce actividad epiléptica cuando se administra intracerebral o intrarraquídeamente en humanos, e intracerebral o intramuscular en animales de laboratorio, generando crisis epilépticas localizadas o generalizadas asociadas a manifestaciones conductuales^{26,28}.

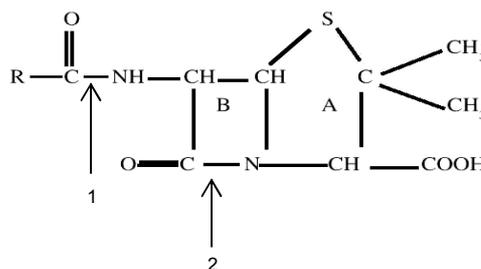


Figura 11. Estructura del núcleo de la penicilina: A = anillo tiazólidina; B = anillo β -lactámico.
Sitios de acción de penicilinasas: (1) = amidasa; (2) = β -lactamasa²⁹

Desde 1960 se estableció que la aplicación de la penicilina en concentraciones de 25 hasta 5000 UI produce focos epilépticos en el cerebro de animales, generalmente en la corteza^{28,30} y en la amígdala del lóbulo temporal.

Electrofisiológicamente se describió que el foco epiléptico cortical inducido por la administración tópica de penicilina presenta un núcleo de células, que experimentan despolarizaciones epilépticas, recurrentes y sincronizadas, las cuales se rodean por un anillo de neuronas sinápticamente hiperpolarizadas. Los cambios electrofisiológicos registrados en estos focos son semejantes a los descritos en focos epilépticos de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal durante el período interictal²⁸. Las espigas inducidas por la administración intracerebral de penicilina durante el período interictal se asocian a un incremento de la actividad inhibitoria de forma similar a las existentes en pacientes humanos con epilepsia del lóbulo temporal¹¹.

Por otro lado, se determinó que el tamaño del foco epiléptico es independiente de la difusión de la penicilina en el cerebro. Además, se demostró que las interneuronas que rodean al foco epiléptico inducido por penicilina G presenta una actividad inhibitoria, siendo esto un posible mecanismo para restringir la propagación de la actividad epiléptica a otras regiones del cerebro³¹.

Aunque el sitio exacto de acción de la penicilina es aún desconocido, varios autores sugieren que las propiedades convulsivas de la penicilina pueden atribuirse a su acción bloqueadora sobre los receptores GABA_A, BZD o sobre el canal del ión cloro. Estudios en diferentes regiones cerebrales (neocorteza, corteza olfatoria, núcleo cuneato y espiga dorsal) permiten establecer que el efecto epiléptico de la penicilina es atribuido a un efecto antagonista sobre el sistema GABAérgico. Además, estudios en la capa IV de la corteza estríada del gato indican un bloqueo parcial de la inhibición mediada por GABA³².

1.4 El uso tradicional de las plantas

La fitoterapia se ha apoyado de investigaciones farmacológicas. La farmacología es una ciencia experimental que estudia los cambios que provoca un medicamento en un organismo vivo. Son dos partes principales que se estudian: 1.- Lo que la medicina provoca en el organismo: por ejemplo, efectos curativos y 2.- Lo que el organismo le hace a la medicina como la absorción, la distribución, el metabolismo, la eliminación. Se dice que una sustancia es

activa cuando, por sus acciones químicas o físicas, es capaz de provocar modificaciones en una o más partes del organismo.

Sobre la toxicidad hay que recordar que de las plantas se extraen algunos de los venenos más tóxicos que se conocen. Son por tanto necesarias las precauciones elementales, como asegurarse de la autenticidad de la planta y hacer un buen estudio de toxicidad de la misma³³.

En los últimos años la química de los productos naturales ha centrado su atención en la localización e identificación de compuestos con actividad biológica, los que han sido aislados de plantas utilizadas en forma tradicional, adquiriéndose valiosa información química, biológica, taxonómica, médica y agrícola.

Asimismo, desde épocas remotas el hombre ha reconocido el empleo de determinadas plantas con potencial farmacológico en la terapéutica de las enfermedades neurológicas. Tal es el caso del uso de la herbolaria en el tratamiento de la epilepsia.

En México, la epilepsia se ha tratado con los remedios herbolarios³⁴. En el Códice Badiano se mencionó a “la flor de corazón” y “el tumba vaqueros” de uso en el tratamiento de la epilepsia³⁵. Gill en 1948³⁶ reportó que la decocción de plantas pertenecientes a las familias Annonaceae, Loganiaceae, Proteaceae y Rubiaceae eran usadas como antiepilépticos. Mientras que N’Gouemo y col. en 1997³⁷, describen que el extracto de *Annona muricata* L. conocida comúnmente como “Guanábana” disminuye las crisis convulsivas en ratones.

La familia Annonaceae posee importancia económica por la comercialización de sus frutos y por la producción de aceites esenciales para la industria de perfumería³⁸. Pero además, estas plantas se han utilizado en la medicina tradicional por sus efectos en el SNC, varias especies son empleadas como infusiones de corteza, hojas o raíces de algunas de ellas para aliviar fiebres y en el tratamiento de desordenes intestinales tales como la disentería, diarrea y cólicos, en el tratamiento de la disípela y para aliviar malestares por dislocaciones o torceduras; otros usos son como antiprotozoario, antineoplásico y en el tratamiento de la diabetes³⁹ y antiepiléptico^{36,37,40}.

1.4.1 *Annona diversifolia* Saff.

A. diversifolia Saff. es un árbol pequeño, con altura hasta de 7.5 m, es delgado y su tronco no mide más de 25.4 cm de diámetro, con una corteza gris oscura, surcada longitudinalmente. Las hojas son elípticas a oblongas, redondeadas en el ápice, delgadas y lisas por arriba y glaucas por debajo (Fig. 12). Las flores son solitarias, de color marrón o amarillo-verdoso teñidas de rojo y de 2.5 cm de longitud⁴¹. El fruto es ovoide-globoso con protuberancias cortas, su superficie es áspera y el color varía de verde pálido a rosa magenta. La pulpa es aromática, blanca o rosada y comestible, posee un sabor dulce ligeramente ácido y suele presentar hasta 60 semillas grandes de color ocre por fruto⁴¹. Esta planta es originaria de las montañas y laderas de México, Guatemala y El Salvador. En México se cultiva en huertos familiares, principalmente en los estados de Colima, Guerrero y de México, es conocida, dependiendo de la región donde se cultive, con nombres como “ilama zapote”, “ilamazapotl”, “izlama”, “hilama”, “papausa”, “papauce” y “zapote de vieja”³⁹. Es usada tradicionalmente por sus efectos; antiepiléptico, analgésico y antiinflamatorio. En estudios previos se encontró que el extracto de esta anona produce un aumento de la duración de la hipnosis producida por el pentobarbital sódico⁴⁰. Además, el extracto promovió el retardo en la presencia de las crisis clónico-tónicas producidas por PTZ y una disminución de la mortalidad producida por este agente convulsivante. Cabe señalar que estos efectos se observaron en dosis a las cuales se produce una pronunciada alteración en la coordinación motora⁴⁰.



Figura 12. Hojas de *Annona diversifolia* Saff. colectadas en Tejupilco, Edo. de México⁴⁰

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los esfuerzos por encontrar una base neuroquímica común a la epilepsia humana y la experimental han sido infructuosos, aunque existen algunos resultados. La búsqueda se ha centrado principalmente en la parte terapéutica, investigando sobre aquéllos fármacos, que en lo posible, regulen la excesiva actividad paroxística que caracteriza éste fenómeno. Se sabe que el extracto etanólico de *Annona diversifolia* Saff. disminuye las crisis inducidas por pentilentetrazol (PTZ) en ratones de acuerdo con estudios conductuales. Sin embargo, no se han hecho estudios donde se compruebe que el extracto disminuye la actividad eléctrica cerebral y que su efecto no se debe a una mera acción relajante muscular o sedante que evita que el sujeto experimental manifieste la convulsión; por lo cual en este trabajo se pretende detectar los cambios en la actividad eléctrica cerebral producida por las convulsiones inducidas en un modelo de epilepsia que semeja la patología observada en el humano, asimismo se utilizará el registro electroencefalográfico (EEG) y simultáneamente el análisis conductual en ratas para comprobar que el extracto produce sus efectos a nivel del SNC específicamente sobre dicha actividad eléctrica asociados a una inhibición de la actividad convulsiva.

3.- HIPÓTESIS

Si el extracto etanólico de *Annona diversifolia* Saff. disminuye la conducta convulsiva, también disminuye la actividad paroxística cerebral producidas por un foco penicilínico amigdalino en ratas

4.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del extracto etanólico de *Annona diversifolia* Saff. en la conducta y en los parámetros electroencefalográficos (EEG) en las crisis convulsivas inducidas por un foco penicilínico amigdalino en ratas

4.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Analizar el posible efecto sedante-hipnótico del extracto etanólico de *A. diversifolia* Saff. en los parámetros del SOL y en el MOR mediante el registro EEG en ratas.
- b) Observar el efecto del extracto etanólico de *A. diversifolia* Saff. en la conducta convulsiva (estadíos) inducidas en el modelo de foco penicilínico amigdalino en ratas.
- c) Evaluar el efecto del extracto etanólico de *A. diversifolia* Saff. en los parámetros de latencia a la primer espiga y a la primer crisis convulsiva, así como la duración de la primer crisis convulsiva en el EEG inducido en el modelo de foco penicilínico amigdalino en ratas

5.- MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Fármacos y/o sustancias de prueba:

Bencilpenicilina sódica (Lakeside S. A. de C.V.), Ketamina (Anesket^{MR}), Xilazina (Rompun^{MR}). Vehículo (solución salina al 0.5 en tween 80).

5.2 Material vegetal

Las hojas de *Annona diversifolia* Saff. (Ilama) se colectaron en la región de Tejupilco, Estado de México durante el mes de septiembre del 2003. Una muestra de referencia se depositó en el Herbario de Plantas Útiles Efraím Hernández X. de la Universidad Autónoma Chapingo.

5.3 Preparación del extracto

Un lote de 3 Kg de hoja de ilama seca y molida se colocaron en maceración con 10 L de hexano (fase de desgrasado) durante 72 h por 3 veces. El macerado se filtró por gravedad y se concentró en un evaporador rotatorio a presión reducida para eliminar completamente el disolvente. El rendimiento fue de 130 g (4.3%) de extracto hexánico crudo. El residuo se colocó en maceración con 10 L de etanol durante 72 h por 3 veces. El filtrado de la segunda maceración se concentró y se obtuvieron 110 g (3.6%) de extracto etanólico crudo⁴⁰. El extracto se resuspendió en el vehículo para ser administrado i.p. en un volumen de 0.1 mL/100 g de peso corporal.

5.4 Animales

Para todo el estudio se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (250-300 g, al inicio de los experimentos) mantenidas con libre acceso al alimento y al agua y en condiciones de temperatura ambiente controlada en ciclo luz/oscuridad de 12 horas.

5.5 Procedimientos experimentales

5.5.1 Anestesia

Las ratas se anestesiaron con ketamina (Anesket^{MR} 100 mg/mL, i.p.) como anestésico general y xilazina (Rompun^{MR} 20 mg/mL) como relajante muscular vía intramuscular (i.m.).

5.5.2 Implante

Cada rata se colocó en el estereotáxico y se expuso el cráneo para colocarle, un electrodo bipolar de acero inoxidable unido a una cánula dirigido al núcleo central de la amígdala (AM). Las coordenadas usadas para AM fueron 2.4 mm posterior al Bregma, lateral 4.3 mm, vertical 7.0 mm de acuerdo con el atlas de Paxinos & Watson⁴², al final la matriz se fijó con acrílico dental. Después de la implantación de los electrodos, los animales se dejaron en recuperación durante un periodo de 7 días.

5.5.3 Registro

Previo al registro EEG (después del período de recuperación), los animales tuvieron una semana más de habituación en la que recibieron alimento y agua (*ad libitum*) en la misma caja del registro. El registro de los electrodos corticales fue monopolar y la referencia fue el músculo lateral de la nuca.

En todas las ocasiones se trabajó con una rata control y una experimental. La actividad eléctrica basal de las ratas se registró durante 30 minutos. Enseguida, el vehículo y 30 mg/kg del extracto se les administró i.p. según correspondió a cada rata y se analizó su efecto en la presencia de alguna de las fases de sueño (SOL y MOR). Una hora después, para la inducción de las crisis convulsivas, a ambas ratas se les administraron 100 UI/ μ l de penicilina G en la amígdala cerebral (localmente) con una microjeringa

Hamilton y se registró su actividad hasta completar 240 min. Los diferentes cambios conductuales que presentaron ambas ratas, denominados como estadios, se analizaron de acuerdo con la escala de Racine (1972)⁴³ en la siguiente manera:

Estadio 1: Contracciones ipsilaterales de la musculatura facial y guiño ocular.

Estadio 2: Las contracciones faciales se hacen bilaterales.

Estadio 3: Aparecen mioclonias en los miembros anteriores.

Estadio 4: Postura de sentado con extensión del cuerpo en posición vertical.

Estadio 5: Levantamientos repetidos sobre las patas traseras y caída.
Crisis convulsiva generalizada tónico-clónica.

Estatus epilepticus: Las crisis convulsivas se repiten con tal frecuencia que el sujeto experimental no se recupera entre las mismas.

5.5.4 Extracción de cerebro y tinción

A las 24 horas después del tratamiento las ratas se sacrificaron obteniéndose los cerebros, los cuales se congelaron en hielo seco pulverizado y se almacenaron a -70°C . El propósito de esto fue realizar cortes muy finos (20μ) en un criostato y conservarlos para su posterior procesamiento para estudios de autorradiografía para el análisis de receptores. Asimismo, algunos cortes se utilizaron para observar la precisión del sitio donde se colocó el electrodo y la cánula para administración de la penicilina utilizando el atlas de Paxinos y Watson⁴² y la tinción de Nissl (Fig. 13).

Para la tinción de Nissl, las rebanadas previamente montadas en los portaobjetos gelatinizados se procesaron con las siguientes soluciones: inicialmente, se colocaron en solución de xilol por 5 minutos, se hidrataron con etanol absoluto por (5 minutos), etanol 95% (5 minutos) y etanol 70% (5 minutos). Para su tinción se colocaron en violeta de cresilo al 0.5% durante 10 minutos. En seguida se lavaron con agua destilada y se deshidrataron con etanol al 70%, 95% y absoluto durante 5 minutos en cada uno. Después se colocaron en xilol hasta que se aclararon y finalmente, se les protegió con

cubreobjetos fijados con Bálsamo de Canadá y se dejaron secar para ser observados al microscopio.

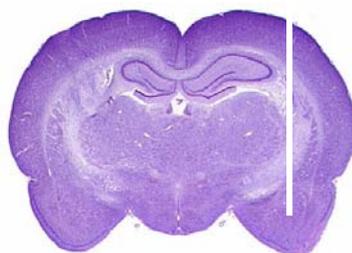


Figura 13. Corte coronal representativo de la tinción de Nissl.

5.5.5 Análisis de los registros

La actividad eléctrica se registro durante 4 horas donde los cambios conductuales se anotaron tanto en la bitácora como en el registro en papel para su análisis conjunto. En el registro de actividad eléctrica basal se analizó para detectar posible artefactos y definir la sensibilidad de cada canal en el polígrafo. Después de la administración de los tratamientos, el análisis del registro fueron la presencia de husos de SOL indicativos de la iniciación del sueño en las ratas y de la actividad desincronizada producida en el sueño MOR. Finalmente, después de la administración de la penicilina, en los trazos del registro EEG se midió manualmente hoja por hoja la latencia a la primer espiga (se consideró como el tiempo que transcurrió entre el final de la microinyección de penicilina y la presencia de espigas en la actividad eléctrica cerebral de la amígdala), la latencia a la primer crisis y la duración de la primer crisis (tiempo total en que se registra la actividad sincrónica autosostenida y de alto voltaje en el EEG)^{44, 45}.

5.6 Análisis estadístico

Los datos se presentan como el promedio \pm E.E.M. de 12 ratas. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student para un nivel de significancia $p < 0.05$, utilizando el programa Sigma STAT^R versión 2.3.

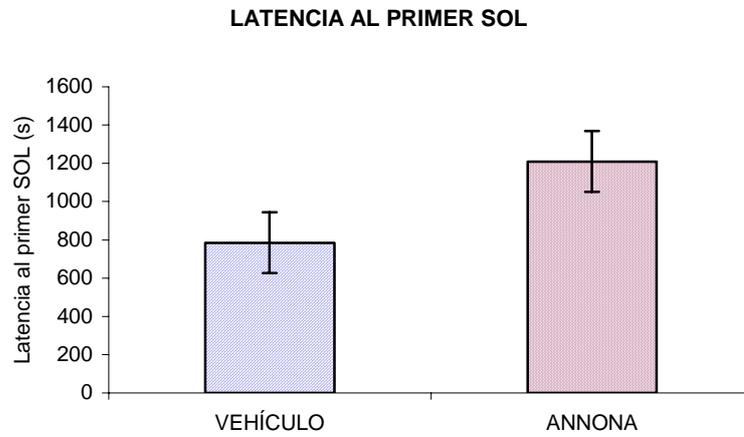
6. RESULTADOS

6.1 Efecto del extracto de *A. diversifolia* en el sueño

En el registro polisomnográfico que se realizó durante la primera hora inmediata a la administración del extracto o del vehículo, se pudo observar que en el grupo que recibió el extracto hubo un aumento del 33.3% en la latencia (Fig. 14A) y un 60% de disminución en la duración del primer sueño de ondas lentas (SOL) (Fig. 14B) en comparación con el grupo vehículo. Nótese en la fotografía la posición de alerta en la rata que recibió el extracto en comparación con la vehículo que manifiesta la posición de ovillo indicativo de que está durmiendo (Fig. 15). La figura 15 muestra además los respectivos registros con la presencia de husos de sueño para el vehículo y la ausencia de los mismos en la rata tratada con el extracto.

Asimismo, en la primera hora de la administración del extracto o el vehículo, el número de eventos de SOL o de vigilia (Fig. 16 A) así como la duración total de las fases de SOL (Fig. 16B) y del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (Fig. 16C) fueron menores en el grupo con extracto en comparación con el grupo vehículo, lo que se reflejó en un aumento en la duración de la correspondiente vigilia (Fig. 16A y B).

A



B

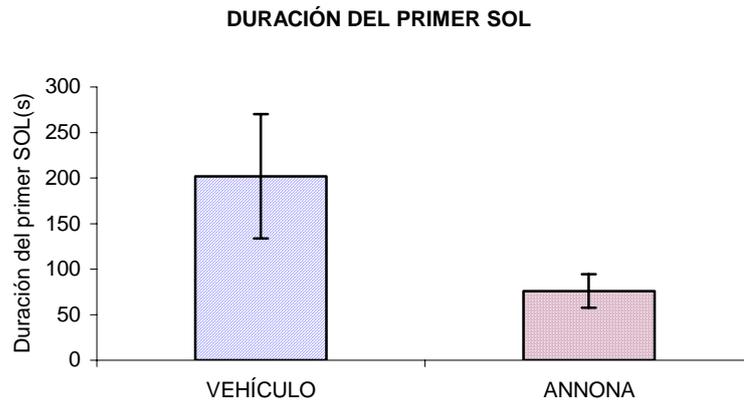


Figura 14. Efecto del extracto de annona sobre la latencia (A) y la duración (B) en el primer sueño de ondas lentas (SOL) en comparación con el grupo vehículo. Los datos se representan como la media \pm E.E.M. de 12 ratas.

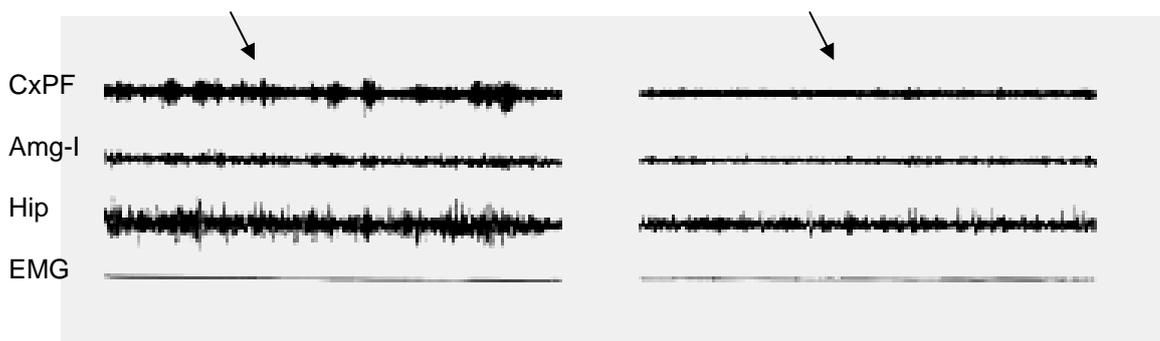
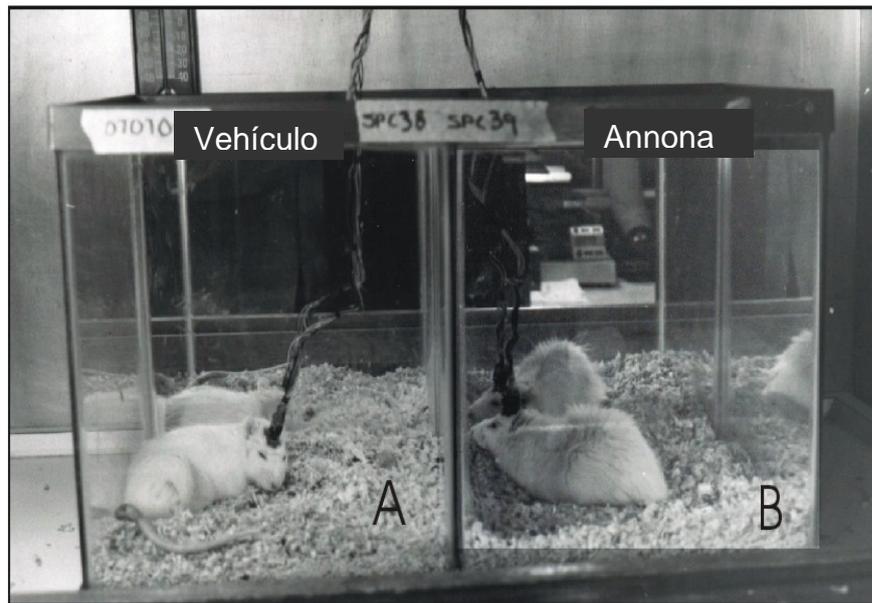


Figura 15. La fotografía muestra las cajas utilizadas en la cámara sonoamortiguada para la evaluación del estado sueño-vigilia y la conducta convulsiva durante los experimentos. En la figura, el panel A ejemplifica una rata administrada con el vehículo y en el panel B la tratada con el extracto de annona, y su respectivo registro de sueño. Nótese los husos ↘ de sueño en la rata vehículo a nivel de la CxPF (corteza prefrontal) y la ausencia de los mismos en la rata tratada con el extracto. Amg-I (amígdala izquierda); Hip (Hipocampo); EMG (electromiograma).

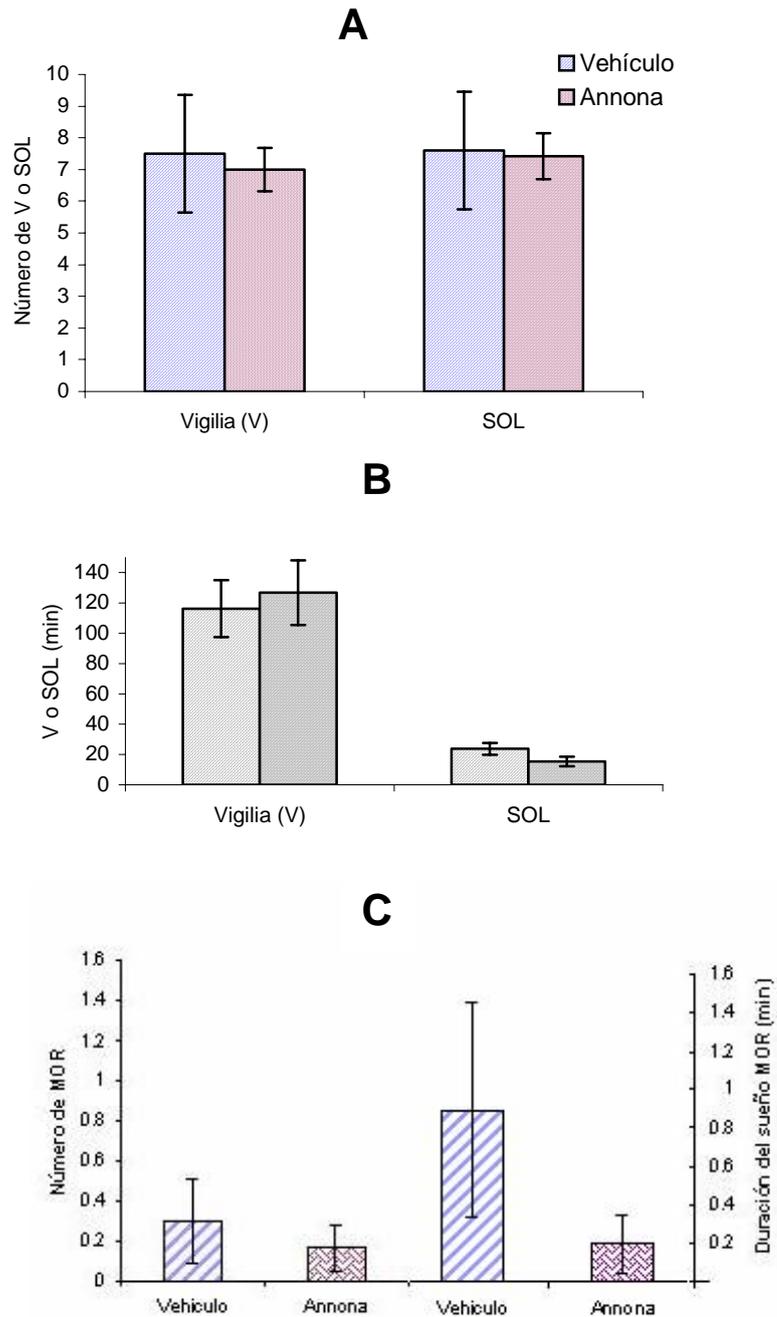


Figura 16. Efecto del extracto de annona en el número de eventos(A) y la duración (B y C) de las fases de SOL (sueño ligero), vigilia (V, animal despierto) y MOR (sueño profundo) en comparación con el grupo vehículo. Los datos se representan como la media \pm E.E.M. de 12 ratas.

6.2 Efecto del extracto de *A. diversifolia* en las crisis convulsivas inducidas por la aplicación de penicilina intra-amigdalal

Después de transcurrida la primera hora de la administración del extracto o el vehículo, tiempo en el cual se sabe que el extracto ejerce un mayor efecto depresor, se administró la penicilina para la inducción de las crisis convulsivas. En esta parte experimental, el extracto retardó la presencia de la primera espiga indicativa de un aumento en la actividad cerebral en áreas de la amígdala y la corteza, no así en el hipocampo (Fig. 17A). Además, en comparación con el grupo vehículo, se observó un aumento en la latencia a la presencia de la primera crisis convulsiva inducida por la penicilina (Fig. 17B), así como una disminución en la duración de la misma en las tres áreas registradas (Fig. 17C).

Con respecto a la conducta convulsiva, que se evaluó en estadios (Fig. 18), se observó que las ratas tratadas con el extracto se mantuvieron en los estadios I, II y III (Fig. 19A), mientras que las tratadas con el vehículo presentaron mayor porcentaje de estadios I, II y III y llegaron a manifestar estadios IV y V e incluso estatus epiléptico (Fig. 19B). La figura 20 ejemplifica tres casos individuales en los que se observa el estadio en el que se mantuvieron las ratas tratadas con extracto en comparación con su respectivo control que recibió el vehículo. Mientras que la figura 21 muestra los promedios del área bajo la curva de la actividad convulsiva para el efecto del extracto en comparación con el grupo vehículo, con lo cual se observó una disminución significativa ($t = 5.605$, $gl = 22$, $p < 0.001$).

Asimismo, la figura 22 muestra un correspondiente registro EEG representativo donde se observa una reducción en la frecuencia de las espigas, así como en la duración de las mismas evidenciando la disminución de la severidad de las crisis convulsivas inducidas por la penicilina en las ratas que recibieron el extracto en comparación con el grupo control. Finalmente, la figura 23 muestra cortes coronales que indican el área de localización de la cánula para la aplicación de penicilina en la amígdala.

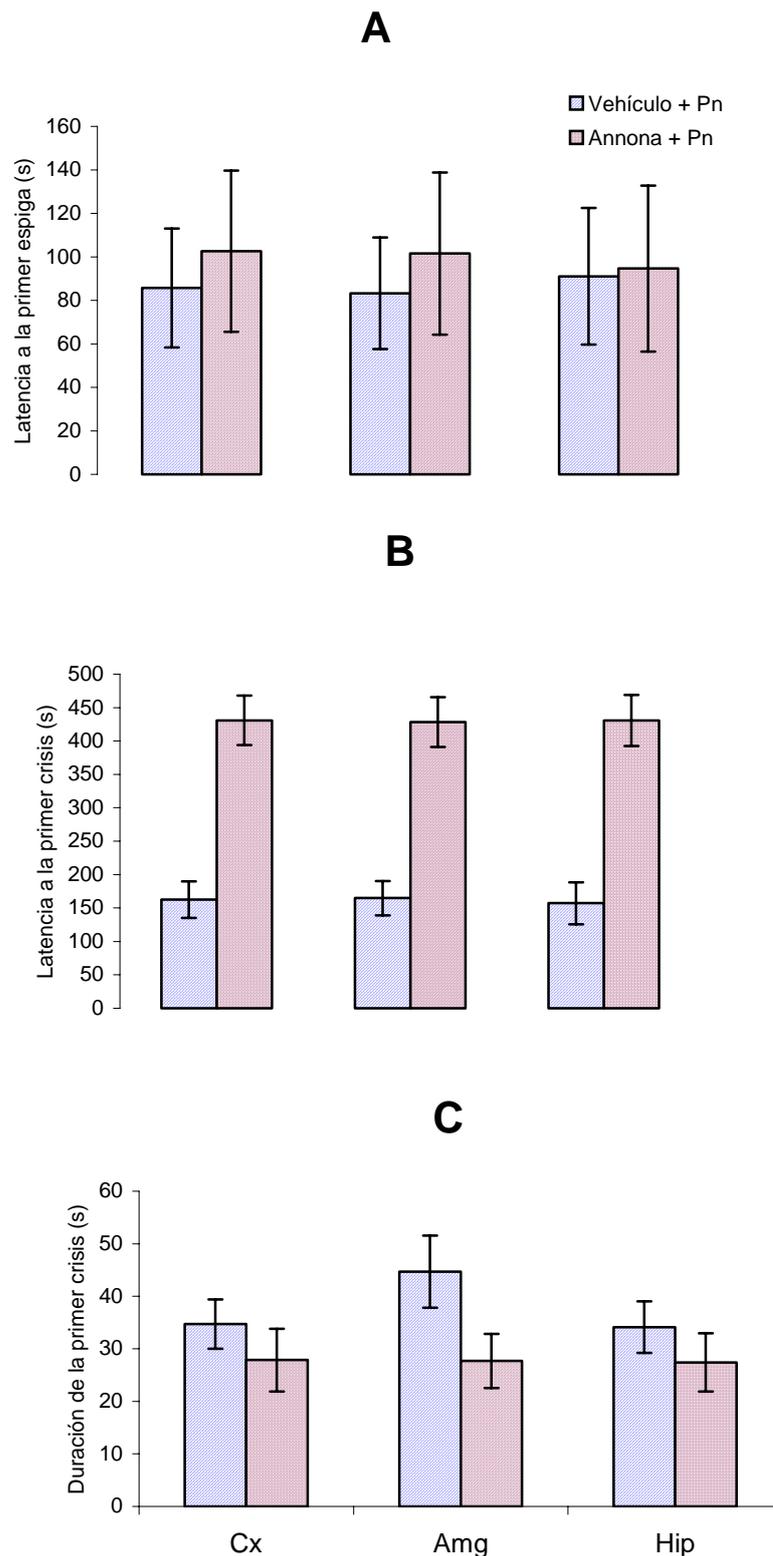


Figura 17. Efecto del extracto de *Annona muricata* en la latencia a la primer espiga (representativa de la actividad cerebral inducida por penicilina) (A), así como la latencia (B) y la duración (C) de la primer crisis convulsiva en comparación con el grupo vehículo y del área cerebral registrada. Los datos se representan como la media \pm E.E.M. de 12 ratas. Cx (Corteza); Amg (Amígdala); Hip (Hipocampo).



ESTADÍO I



ESTADÍO III



ESTADÍO V

Figura 18. Las fotografías muestran la manifestación conductual de la crisis convulsiva inducida por la aplicación de penicilina en la amígdala cerebral. Se ejemplifican los estadios I, III y V.

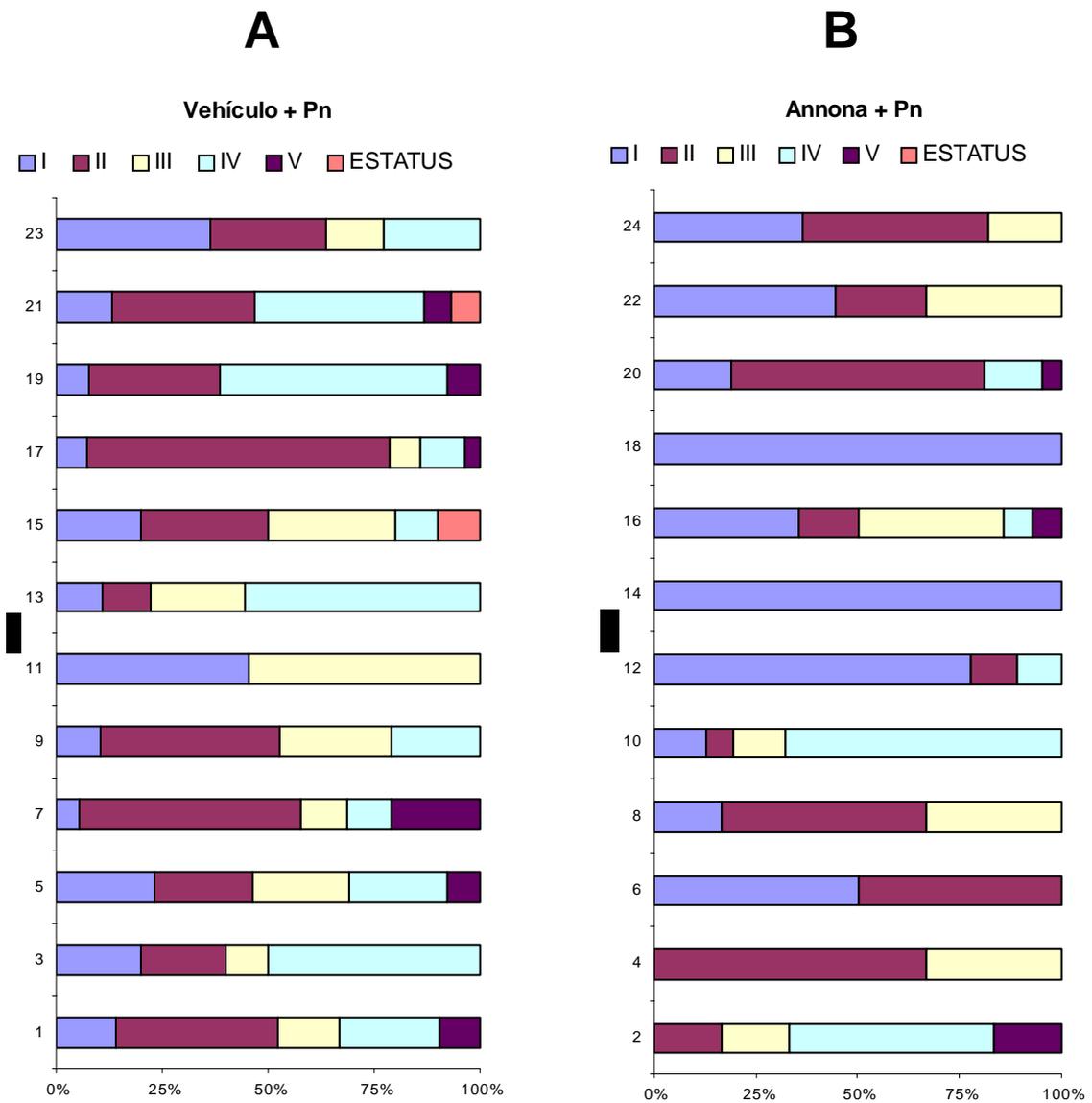


Figura 19 Número de crisis por estadio obtenido por rata y el total de ratas evaluadas (n=12) para el tratamiento con annona (panel B) en comparación con el control (panel A) utilizados en el presente estudio. Pn (penicilina)

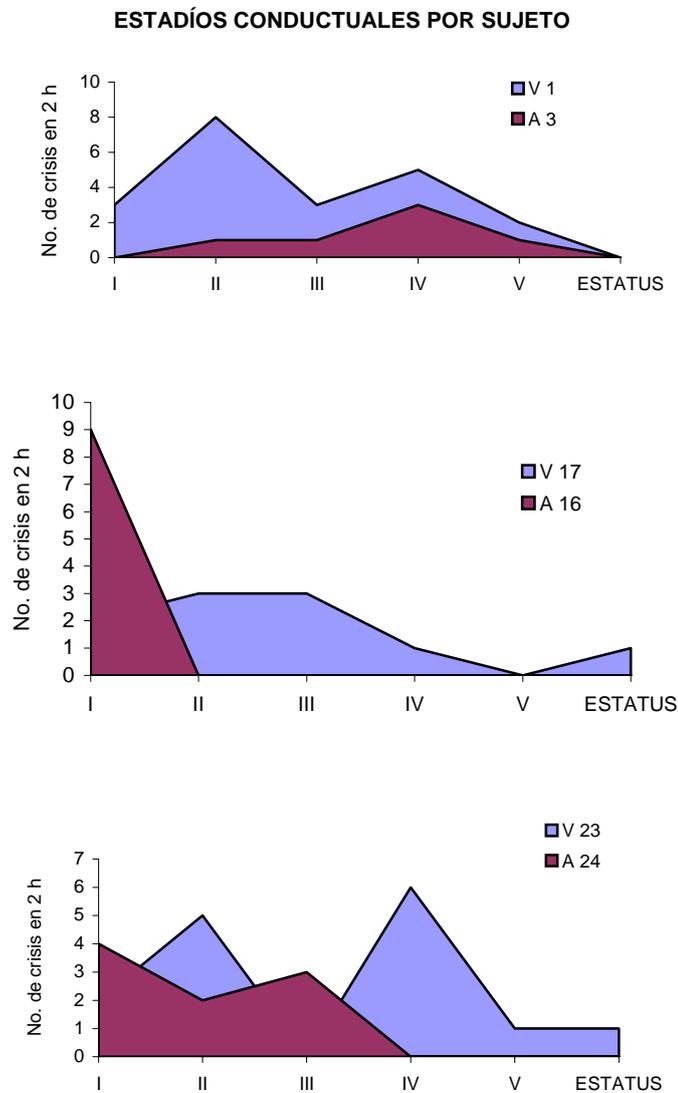


Figura 20. Área bajo la curva representativa del efecto anticonvulsivo de acuerdo al número de crisis por estadio que manifestaron las ratas tratadas con el extracto de annona en comparación con su respectivo vehículo (se indica el número de rata). En el eje “X” los números romanos indican los estadios conductuales epilépticos, en el eje “Y” se representa el número de crisis en dos horas de registro. Nótese la disminución en el número de crisis y del estadio en ratas tratadas con el extracto (área guinda) en comparación con lo obtenido en el vehículo (área azul). A (annonna) y V (vehículo).

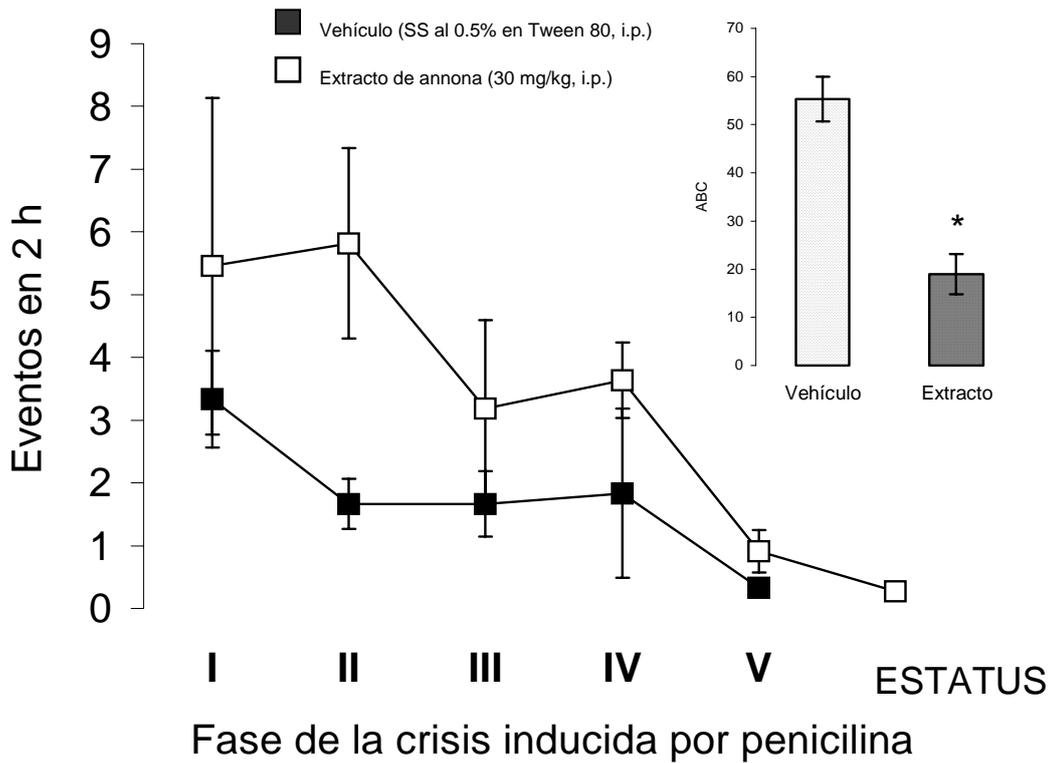


Figura 21. Representación gráfica que muestran el área bajo la curva (ABC) del número de crisis convulsivas inducidas por la penicilina intra-amigdalara por estadio en las ratas con extracto de annona en comparación con el vehículo. Las barras representan el promedio del ABC \pm E.E.M. * $p < 0.001$ prueba t = 5.605, gl = 22.

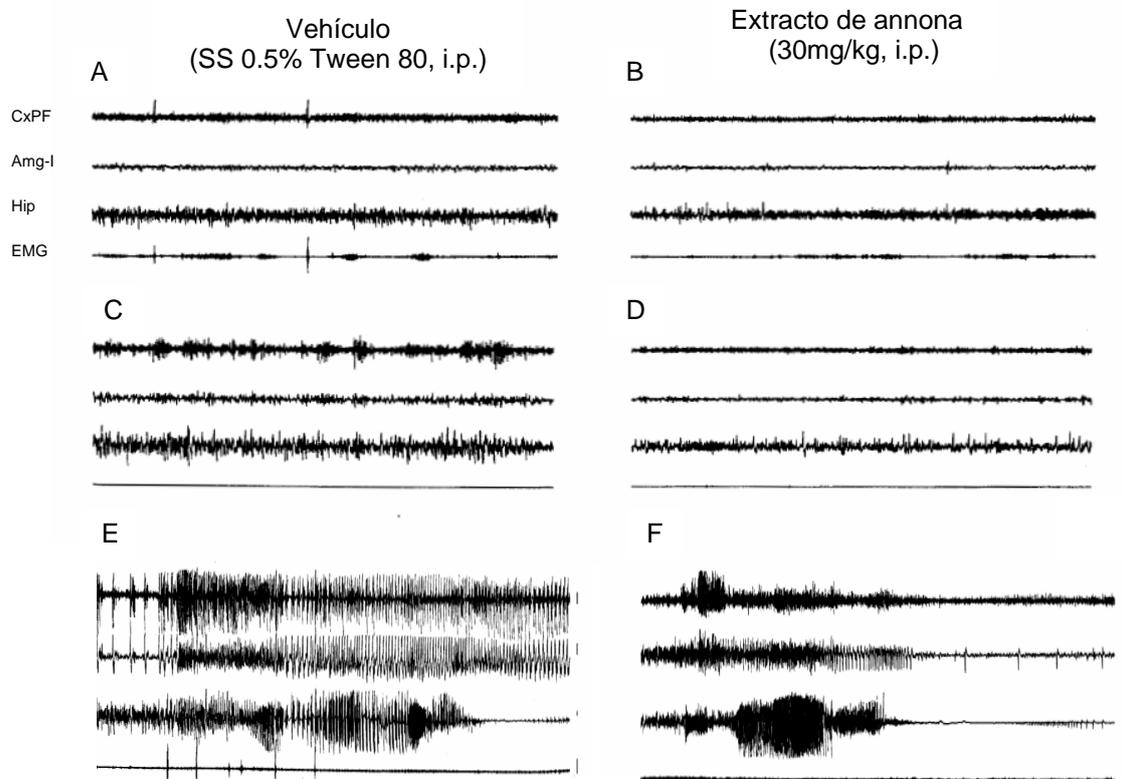


Figura 22. Registro EEG representativo de una rata que recibió el vehículo (panel izquierdo) en comparación con una rata tratada con extracto de annona (panel derecho). Los cuadrantes A y B muestran los correspondientes registros basales. Los cuadrantes C y D muestran el registro 60 min después de la administración de vehículo y el extracto respectivamente. Los cuadrantes E y F muestran la actividad cerebral inducida durante las crisis convulsivas después de la administración de penicilina intra-amigdalár, para cada caso. Nótese que durante las crisis los controles presentaron espigas de gran amplitud y frecuencia. Mientras que para los tratados con extracto la frecuencia y la duración disminuyeron importantemente. CxPF (Corteza prefrontal); Amígdala izquierda (Amg-I); Hipocampo (Hip); electromiograma (EMG). La calibración es de 1 segundo y 50 μ V

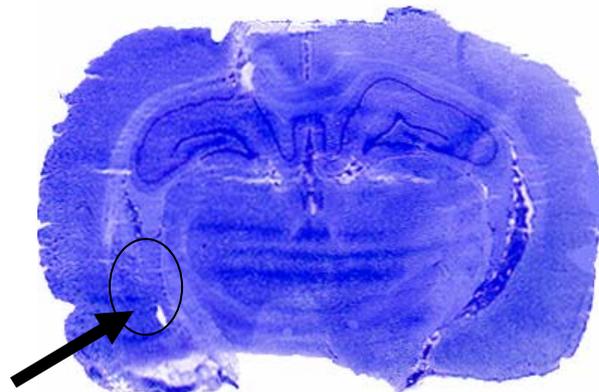
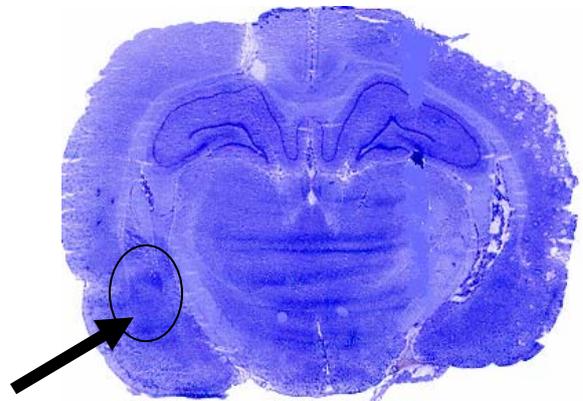
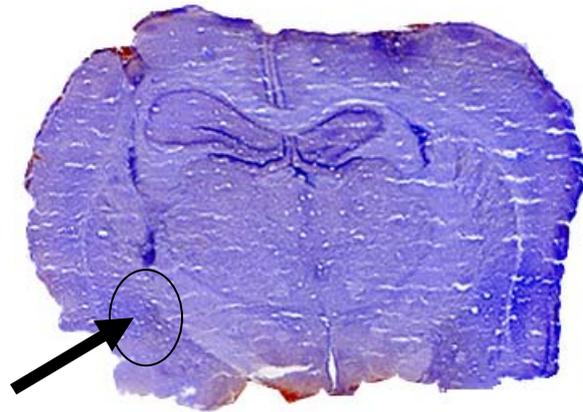


Figura 23. Cortes coronales del cerebro de rata representativos de la tinción de Nissl que muestran el área de localización de la cánula utilizada para la inyección de penicilina a nivel de la amígdala.

7.- DISCUSIÓN

En el presente trabajo de tesis se evaluó el efecto producido por la administración del extracto etanólico de *A. diversifolia* en el sueño y en las crisis convulsivas inducida por la aplicación local de penicilina intra-amigdalara en ratas.

En el registro polisomnográfico que se realizó durante la primera hora inmediata a la administración del extracto, se observó que el extracto no produce efectos sedantes-hipnóticos por sí mismo y que incluso retrasa el inicio del sueño en las ratas, aunque cabe señalar que este efecto no fue estadísticamente significativo. En 1998, González-Trujano y cols.⁴⁰, reportaron el primer estudio del efecto del extracto etanólico de *A. diversifolia* sobre el SNC. En este estudio se menciona que *A. diversifolia* prolongó el efecto sedante-hipnótico inducido con pentobarbital sódico en ratones⁴⁰. Se sabe que el pentobarbital sódico es una sustancia depresora cuyo mecanismo de acción es aumentar la duración de la apertura del canal de cloro al cual está acoplado el receptor GABA_A⁴⁶. Estos antecedentes sugieren que el extracto de *A. diversifolia* produce una acción depresora en cuyo mecanismo podría estar involucrado el receptor GABA_A, aunque en un sitio alostérico diferente al del pentobarbital sódico. Sin embargo, se han descrito estudios en los que se menciona que algunos extractos producen inhibición de las enzimas que metabolizan al pentobarbital sódico, por lo tanto no se descarta la posibilidad de que el extracto de *A. diversifolia* pudiera inhibir dichas enzimas incrementando así las concentraciones del pentobarbital y su efecto sedante-hipnótico. En un futuro sería interesante evaluar los efectos de *A. diversifolia* sobre dichas enzimas.

Por otro lado, sesenta minutos después de la administración del extracto y el correspondiente análisis polisomnográfico, se realizó la inducción de crisis

convulsivas por la inyección local de penicilina en el núcleo amigdalino. Las ratas que recibieron el vehículo presentaron espigas de gran amplitud y frecuencia, así como la característica post-descarga (subsecuentes espigas que van disminuyendo en tamaño)⁴⁷. Mientras que en las ratas tratadas con el extracto, se observó una disminución no solo en la frecuencia sino también en la duración de dichas espigas, además de que no todas las espigas presentaron post-descarga mostrando así su actividad anticonvulsiva. Cabe señalar que aún cuando algunas ratas mostraron aumento en la actividad cerebral semejante a las controles, ésta no se asoció a la conducta motora característica de la crisis convulsiva. De tal manera que en estas ratas tratadas con el extracto se presentaron ocasionalmente mioclonias de menor duración en comparación con las manifestadas por las ratas control. Estos resultados concuerdan con el estudio polisomnográfico, ya que se ha reportado que durante el SOL hay sincronización neuronal que promueve la manifestación de las crisis convulsivas, mientras que durante el MOR hay desincronización de la actividad cerebral produciendo una inhibición de las mismas⁴⁸. Así, una disminución en el SOL provocada por el extracto estaría asociada con una menor sincronización y por lo tanto, con una reducción de la manifestación de crisis convulsivas¹⁸.

En detalle se observó un ligero retardo en la aparición de la primera espiga inducida por la aplicación de penicilina, lo cual sugiere que el extracto evitó el inicio del bloqueo del receptor GABA_A ante la presencia de este antagonista. Asimismo, se observó un retraso significativo en la presencia de la primera crisis convulsiva, lo cual podría interpretarse como una inhibición del reclutamiento neuronal que participaría en la sincronización de la actividad cerebral inducida por la penicilina, evitando así el inicio de la crisis convulsiva. Sin embargo, aún cuando el extracto no mostró la capacidad de bloquear totalmente la propagación de la crisis convulsiva, ya

que durante ésta se produjo activación de la amígdala como foco epileptógeno y activación además de áreas como la corteza y el hipocampo, sí produjo una disminución en la duración de la misma. En consecuencia, conductualmente las ratas tratadas con el extracto presentaron menor número de crisis por estadio y permanecieron en los estadios I, II y III (crisis parciales) como un indicativo de menor severidad y evitación de la generalización de la crisis convulsiva. En contraste las ratas control presentaron estadios IV y V (crisis generalizadas) e incluso estatus epiléptico. En previos estudios, se reportó que el extracto de *A. diversifolia* retardó las crisis convulsivas inducidas en ratones con PTZ⁴⁰. Estos antecedentes aunados con los resultados en esta tesis sugieren que el efecto anticonvulsivo del extracto de *A. diversifolia* en las crisis inducidas por el PTZ en ratones y la penicilina en ratas, ambos antagonistas del receptor GABA_A, podría ser mediado por dicho receptor. En estudios previos, mediante un fraccionamiento biodirigido se aisló uno de los principales componentes del extracto como responsable de la actividad anticonvulsiva, el cual fue identificado como palmitona⁴⁹, una cetona alifática y simétrica que modifica la unión al receptor a BDZ y a los receptores delta a opiodes endógenos⁴⁹. Estudios sobre los opiodes endógenos postulan que este sistema inhibitor participa en la disminución de la severidad de las crisis convulsivas y que aumentan el umbral convulsivo⁵⁰. De tal manera que aunque estos estudios refuerzan la posibilidad de la presencia del sistema GABAérgico en el efecto anticonvulsivo del extracto de *A. diversifolia*, no se descarta la posibilidad de la participación del sistema inhibitor de los opiodes endógenos en la disminución de la severidad de las crisis inducidas por penicilina debido a la presencia de la palmitona en dicho extracto.

El estudio químico de la familia *Annonaceae*, ha conducido al aislamiento de sustancias de diversa naturaleza química, con propiedades biológicas interesantes, lo que en muchos casos justifica el uso tradicional que se ha dado a las mismas; por ello, esta familia de plantas es considerada como una fuente potencial de sustancias con importantes propiedades farmacológicas. Dichos estudios fitoquímicos han reportado que de las plantas de ésta familia se han aislado compuestos químicos como las acetogeninas, alcaloides, carbohidratos, lípidos, aminoácidos, proteínas, polifenoles, aceites esenciales, terpenos y compuestos aromáticos^{51,52}. Sin embargo, para el caso de efectos en el SNC, son escasos los estudios farmacológicos asociando alguno de estos compuestos con actividad en el SNC, tal es el caso de tres isoquinolinas descritas por Hasrat y col., 1997⁵¹ con posibles efectos antidepresivos y la palmitona, ya mencionada por sus efectos anticonvulsivos⁴⁹, de la cual recientemente se le ha asociado además con efectos ansiolíticos aislada del extracto de *A. cherimolia*⁴⁶ y *A. diversifolia*⁴⁰.

8.- CONCLUSIONES

El presente estudio da evidencia de que:

- El extracto de *A. diversifolia* no produce efectos sedantes-hipnóticos por sí mismo.
- La disminución de la conducta convulsiva y la actividad paroxística en el EEG refuerzan el efecto anticonvulsivo del extracto de *A. diversifolia* y sugiere que su acción es mediada por el sistema GABAérgico.
- Asimismo, apoya el uso que se le da a esta especie en la medicina tradicional.

9.- PERSPECTIVAS

- Evaluar el efecto del extracto etanólico de *Annona diversifolia* Saff. y de la palmitona en los parámetros EEG (SOL y MOR) a los 60 minutos y 24 horas.

- Observar el efecto de la palmitona en la conducta convulsiva inducidas en el modelo de foco penicilínico amigdalino en ratas.

- Evaluar el efecto de la palmitona en los parámetros de latencia a la primer espiga y a la primer crisis convulsiva, así como la duración de la primer crisis convulsiva en el EEG inducido en el modelo de foco penicilínico amigdalino en ratas.

10.- BIBLIOGRAFÍA

1. Guyton AC. Tratado de Fisiología Médica. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México 1997. pp. 609-615, 793-797, 811-822.
2. Brailowsky S. Las sustancias de los sueños. Neuropsicofarmacología. La ciencia para todos/130. Fondo de Cultura Económica. México 1998.
3. Blanco-Lezcano L. Pavón-Fuentes N. Serrano-Sánchez T. Núcleo pedúnculo pontino. Una estructura involucrada en el procesamiento motor y emocional. Revista de Neurología. 2003, 36:1181-1185.
4. Datta S. Spoley EE. Patterson EH. Microinjection of glutamate into the pedunculo pontine tegmental induces REM sleep and wakefulness in the rat. American Journal of Physiology. 2001, 280:R752-R759.
5. Ulloor J. Mavanji V. Saha S. Siwek D.F. Datta S. Spontaneous REM sleep is modulated by the activation of the pedunculo pontine tegmental GABA_B receptors in the freely moving rat. Journal of Neurophysiology. 2004, 91:1822-1831.
6. González-Hernández T. Barroso-Chinea P. Pérez C. M.A. Valera P. Dopino JC. Rodríguez M. Response of GABAergic cells in the deep mesencephalic nucleus to dopaminergic cell degeneration: an electrophysiological and in situ hybridization study. Neuroscience. 2002, 113:311-321.

7. Rodríguez M. Abdala P. Barroso-Chinea P. González-Hernández T. The deep mesencephalic nucleus as an output center of basal ganglia: morphological and electrophysiological similarities with the substantia nigra. *The Journal of Comparative Neurology*. 2001, 438:12-31.
8. Zuwei Z. Michael. Fear-potentiated startle in rats is mediated by neurons in the deep layers of the superior colliculus/deep mesencephalic nucleus of the rostral midbrain through the glutamate non-NMDA receptors. *The Journal of Neuroscience*. 2004, 24:10326-10334.
9. Ganong W. *Fisiología Médica*. Editorial El Manual Moderno. México 1996.
10. Rang HP. Dale MM. Ritter JM. *Farmacología* 4a edición. Editorial Elsevier. Madrid España. 2000, pp. 503-515, 609-621.
11. Engel, JJr. Inhibitory mechanisms of epileptic seizure generation. *Negative Motor Phenomena*. 1995. 67:157-168.
12. ILAE Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposed revisions of clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1981, 22:489-501.
13. ILAE Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. 1989, 30:389-399.
14. Velasco A. San Roman L. Serrano J. Martínez-Sierra R. *Farmacología Fundamentos*. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España 2003. pp. 331-341.

15. Brailowsky S. Epilepsia: enfermedad sagrada del cerebro. La ciencia para todos/170. Fondo de Cultura Económica. México 1999. pp. 48-55, 104-109.
16. Gibbs EL. Gibbs FA. Electroencephalographic evidence of thalamic and hypothalamic epilepsy. *Neurology*. 1951, 12:136-144.
17. Janz D. Epilepsia and the sleeping-waking cycle. *Handbook of Clinical Neurology*. 1974, 15:457-490.
18. Peralta-Adrados R. Epilepsia y ciclo sueño-vigilia. *Revista de Neurología*. 2004, 38:173-175.
19. William EM. Pryse-Phillips TJ. *Neurología Clínica* 2a edición. Editorial El Manual Moderno. México 1996. pp. 99-105.
20. Fernández-Guardiola A. Modelos experimentales de epilepsia. *Gaceta Médica de México*. 1992, 128:343-347.
21. Becker A. Grecksch G. Flunarizine: its effect on pentylentetrazol-kindled seizures and on related cognitive disturbance. *Journal of Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1995, 52:765-769.
22. Faingold CL. Hoffman WE. Caspary DM. Effects of iontophoretic applications of convulsivants on the sensory responses of neurons in the brain-stem reticular formation. *Electroencephalography of Clinical Neurophysiology*. 1984, 58:55-64.

23. Arvanov VL. Holmes KH. Keele NB. Shinnick-Gallagher P. The functional role of metabotropic glutamate receptors in epileptiform activity induced by 4-aminopyridine in the rat amygdala slice. *Brain Research*. 1995, 669:140-144.
24. Loscher W. Animal models of intractable epilepsy. *Progress in Neurobiology*. 1997, 53:239-258.
25. Feria-Velasco A. Martínez MD. Rubio DF. *Epilepsia. Aspectos neurobiológicos, médicos y sociales*. Ediciones del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. 1a Edición. México 1997.
26. Rall TW. Schleifer LS. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Goodman y Gilman. 9ª Edición. México 1996.
27. Jenkins RL. The management of anxiety in medical practice. *International Record of Medicine and General Practice Clinics*. 1957, 170:588-593.
28. Prince DA. Electrophysiology of "epileptic" neurons: spike generation. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1969, 26:476-487.
29. Kalant H. Roschlaw W. *Principios de Farmacología Médica*. 6a Edición. Editorial Oxford University Press. México 2002. pp. 656-663.
30. Ives JR. Gloor P. Automatic nocturnal sleep sampling: a useful method in clinical electroencephalography. *Electroencephalography of Clinical Neurophysiology*. 1977, 43:880-884.

31. Prince DA. Wilder BJ. Control mechanisms in cortical epileptogenic foci "Surround" inhibition. *Archives of Neurology*. 1967, 16:194-202.
32. Tsuda A. Ito. Kishik. Shiroishi H. Tsuda H.. Mori C. Effect of penicillin on GABA-gated chloride ion influx. *Neurochemical Research*. 1994, 19:1-4.
33. Brinkworth RI. Lloyd EJ. Andrew PR. *Brain Chemistry and Central Nervous System Drugs. Natural Products Reports*. 1988, 363-386.
34. Jiménez-Olivares E. *Psicofarmacología indígena precolombina. Neurología, Neurocirugía y Psiquiatría*. 1978, 19:40-41.
35. De la Cruz M. *Libellus de medicinalibus indorum herbis*. IMSS. México. 1964.
36. Gill RC. Curariform drug. *British*. 1948, 619:7.
37. Gouemo PN. Koudogbo B. Tchivounda HP. Nguema A. Etoua MM. Effects of ethanol extract of *Annona muricata* on pentylenetetrazol-induced convulsive seizures in mice. *Phytotherapy Research*. 1997, 11:243-245.
38. Estrada CA. Caracterización de la ilama (*Annona diversifolia* Saff.). En Salitre de Palmerillos, Municipio de Ametepc, Estado de México. Tesis Profesional. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma de Chapingo. México 1994.
39. Ruiz SE, Moret AL. Las Annonas en el México Prehispánico. *Memorias Congreso Internacional de Anonáceas*. Chapingo, Estado de México, 12-14 noviembre 1997, pp. 169-186.

40. González-Trujano ME. Navarrete A. Reyes B. Hong E. Some pharmacological effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous system in mice. *Phytotherapy Research*. 1998, 2:600-602.
41. Estrada EL. Jardín Botánico de Plantas Medicinales Maximino Martínez Editorial Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Fitotecnia. 1985. pp. 15-20.
42. Paxinos G. Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press. New York 1986.
43. Racine MJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1972, 32:281-294.
44. Martínez A. López-Ruiz E. Vega-Flores G. Fernández-Mas R. Fernández-Guardiola A. Efecto de la estimulación del nervio vago sobre la epilepsia focal amigdalina en rata. *Salud Mental*. 2004, 27:62-72.
45. Martínez A. Fernández-Mas R. López E. Vega G. Fernández-Guardiola A. Efecto kindling producido por un foco penicilínico amigdalino, en preparaciones crónicas de gato. estudio polisomnográfico (registros de 23 horas) y de mapeo cerebral. *Salud Mental*. 2000, 23:26-34.
46. López-Rubalcava C, Piña-Medina B, Estrada-Reyes R, Heinze G, Martínez-Vázquez M. Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimolia* in two anxiety paradigms: Possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex. *Life Science*. 2005, Aug 22. In press.

47. Fernández-Guardiola A. Martínez A. Fernández-Mas R. Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23h. recording) and brain mapping study. *Epilepsy Research*. 1995, 22:127-136.
48. Bazil CW. Sleep-related Epilepsy. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2003, 3:167-172.
49. González-Trujano ME. Navarrtete A. Reyes B. Cedillo-Portugal E. Hong E. Anticonvulsivant properties and bio-guided isolation of palmitone from leaves of *Annona diversifolia*. *Planta Medica*. 2001, 67:136-141.
50. Schwark WS. Frey HH. Czuczwar SJ. Effect of opiates on the parameters of seizures in rats with full amygdaloid-kindled convulsions. *Neuropharmacology*. 1986, 25:839-844.
51. Hasrat JA, De Bruyne T, De Backer JP, Vauquelin G, Vlietinck AJ. Isoquinoline derivatives isolated from the fruit of *Annona muricata* as 5-HTergic 5-HT1A receptor agonists in rats: unexploited antidepressive (lead) products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1997, 49: 1145-1149.
52. Rupprecht JK. Mclaughlin LJ. Annonaceous acetogenins: a review. *Journal of Natural Products*. 1990, 53:237-278.