



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**“ESTUDIO SOBRE LA ORGANIZACIÓN TEMPORAL DE LAS FASES DEL  
SUEÑO Y LA VIGILIA DE RATAS EN PREPARACIÓN CRÓNICA, DURANTE  
LA EPILEPTOGÉNESIS Y ESTABLECIMIENTO DE CRISIS”**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE**  
**LICENCIADA EN PSICOLOGÍA**  
**P R E S E N T A:**  
**IRMA EDITH LÓPEZ RUIZ**

**Sinodales:** **Biol. Adrián Martínez Cervantes. (Director)**  
**Dr. Fructuoso Ayala Guerrero.**  
**Dra. Irma Yolanda del Río Portilla.**  
**Lic. Karina Simón Arceo.**  
**Dr. César Casasola Castro.**



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.

## AGRADECIMIENTOS

Gracias por el apoyo que recibí de todos ustedes compañeros de trabajo, amigos, colegas y profesores. Todas las experiencias, ideas, críticas, comentario y recomendaciones que me compartieron, fueron mi incentivo para lograr la conclusión de este trabajo. Gracias a aquellos que se encuentran lejos y a los que no volveré a ver. Gracias a todos.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Neurofisiología del control y la regulación II de la División de Investigaciones de Neurociencias, del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (proyecto 3220).

Dedico este trabajo a pá y má, hermanas, sobrinos, Dr. Chema, colegas y compañeros de psiquiatría, a los compañeros de laboratorio y amigos queridos que han compartido su tiempo conmigo.

Esta Tesis fue desarrollada inicialmente bajo la dirección del Dr. Augusto Fernández-Guardiola debido a su sensible fallecimiento, éste trabajo fue llevado casi a su término con la asesoría del Dr. José Ma. Calvo y Otálora hasta su lamentable deceso. Finalmente el presente trabajo se concluyó con la supervisión del Biol. Adrián Martínez Cervantes.

## INDICE

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>CAPÍTULO 1. EL SUEÑO</b> .....	5
<b>1.1</b> Las fases de sueño.....	6
<b>1.2</b> El Sueño en el Humano	
<b>1.2.1</b> Descripción de la actividad EEG de las fases de vigilia y sueño en el humano .....	6
<b>1.2.2</b> Estructuras inductoras de las fases de vigilia y sueño.....	8
<b>1.3</b> El Sueño en la Rata.....	12
<b>1.3.1</b> Descripción de la conducta y actividad EEG de las fases de vigilia y sueño en la rata.....	13
<b>CAPÍTULO 2. LA EPILEPSIA</b> .....	16
<b>2.1</b> Definición de epilepsia.....	17
<b>2.1.1</b> Clasificación de las crisis.....	18
<b>2.2</b> Modelos experimentales.....	19
<b>2.2.1</b> Modelos de epilepsia parcial.....	19
<b>2.2.2</b> Modelos de epilepsia generalizada.....	20
<b>2.3</b> Estadios conductuales de las crisis epilépticas.....	21
<b>CAPÍTULO 3. ESTUDIOS DEL SUEÑO Y LA EPILEPSIA</b> .....	22
<b>3.1</b> En el Humano.....	23
<b>3.1.1</b> Efecto de las crisis epilépticas sobre el sueño.....	23
<b>3.1.2</b> El papel del sueño sobre las crisis epilépticas.....	24
<b>3.2</b> En Animales Experimentales.....	26
<b>3.2.1</b> Efecto de las crisis epilépticas sobre el sueño.....	26
<b>3.2.2</b> El papel del sueño sobre las crisis epilépticas.....	27
<b>CAPÍTULO 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	27
<b>4.1</b> Planteamiento del Problema.....	27
<b>4.2</b> Objetivo General.....	28
<b>4.3</b> Objetivos Específicos .....	28
<b>4.4</b> Hipótesis.....	29
<b>4.5</b> Material y Métodos.....	29
<b>4.6</b> Procedimiento.....	30
<b>CAPÍTULO 5. RESULTADOS</b> .....	35
<b>5.1</b> Ubicación del sitio de inyección y de registro.....	35
<b>5.2</b> Descripción cualitativa de los registros EEG.....	36
<b>5.2.1</b> Efecto de la aplicación tópica de penicilina (Dosis de 50 y 100 U. I.) en el núcleo central de la amígdala sobre la actividad eléctrica cerebral y la conducta.....	36
<b>5.2.2</b> Efecto de la actividad epiléptica sobre la organización temporal del sueño.....	39
<b>5.2.3</b> Ocurrencia de las espigas y las crisis de acuerdo a las fases de vigilia y sueño.....	41
<b>5.3</b> Análisis cuantitativo de los registros EEG .....	42
<b>5.3.1</b> Número de registros obtenidos por cada grupo.....	42
<b>5.3.2</b> Latencia para la instalación del primer episodio de SOL y sueño MOR.....	43

5.3.3 Número, duración media y porcentaje del tiempo total de las fases de vigilia y sueño.....	44
5.3.4 Acumulación por hora de cada fase de vigilia y sueño.....	46
5.3.5 Análisis del porcentaje de las fases de vigilia y sueño de acuerdo a cada periodo de luz y oscuridad.....	49
<b>CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>53</b>
6.1 La aplicación de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal y su efecto en la actividad EEG .....	53
6.2 La actividad epiléptica y su repercusión sobre la organización del sueño.....	54
6.3 La ocurrencia de la actividad epiléptica de acuerdo a las fases de SOL y sueño MOR.....	54
6.4 La latencia, número de episodios, duración media y porcentaje del tiempo total de las fases de vigilia y sueño.....	55
6.5 La acumulación por hora de cada fase de vigilia y sueño.....	58
6.6 El porcentaje del tiempo total de cada fase de acuerdo a los periodos de luz y oscuridad .....	59
6.7 La privación del sueño .....	60
6.8 El estrés .....	61
6.9 Los fármacos anticonvulsivos .....	61
<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>64</b>

## ABREVIACIONES

<b>EEG</b>	Electroencefalograma
<b>V</b>	Vigilia
<b>SOL</b>	Sueño de ondas lentas
<b>MOR</b>	Movimientos oculares rápidos
<b>PPT</b>	Nucleo Pedúnculo pontino tegmental
<b>PBL</b>	Región parabraquial
<b>EOG</b>	Electrooculograma
<b>EMG</b>	Electromiograma
<b>μV</b>	Microvolts
<b>Hz</b>	Herzios
<b>PGO</b>	Ponto-geniculo-occipitales
<b>GABA</b>	Ácido Gama - aminobutírico
<b>Cpf</b>	Corteza prefrontal
<b>Am-I</b>	Amígdala izquierda
<b>Hip-D</b>	Hipocampo derecho
<b>FRM</b>	Formación reticular mesencefalica
<b>μl</b>	micro litro
<b>s.s</b>	solución salina

## RESUMEN

Las crisis epilépticas generan deterioro en la organización del sueño, el cual se presenta primero por el efecto agudo de una crisis durante el sueño y segundo por el efecto crónico de la epilepsia. Los modelos experimentales de epilepsia que se han utilizado en el estudio del sueño, comprenden la estimulación cerebral mediante sustancias químicas o descargas eléctricas que son capaces de desencadenar crisis epilépticas. En la actualidad, la literatura relacionada al sueño y la epilepsia coincide en que el sueño presenta modificaciones por la epilepsia, sin embargo aun no se ha descrito la participación que tiene la epilepsia sobre el sueño en registros EEG de más de 24 horas continuas. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la organización temporal de las fases del sueño y la vigilia durante la epileptogénesis y el establecimiento de crisis, producida por la aplicación tópica de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal de rata en 36 horas continuas de registro polisomnográfico.

**Método:** Se utilizaron ratas *Wistar* a las que se les implantaron electrodos para registro convencional de sueño y, siguiendo coordenadas estereotáxicas, se implantaron electrodos en el hipocampo dorsal derecho y en la amígdala del lóbulo temporal izquierdo. Para la administración de la penicilina se utilizó una cánula, la cual iba unida al electrodo implantado en la amígdala, ésta cánula se ubicó 1.0 mm arriba del núcleo central de la amígdala. Se realizaron registros control durante tres días consecutivos, posteriormente se administraron diferentes dosis de penicilina (50 y 100 U. I.), cada dosis se aplicó en distinto día, cada animal recibió una sola dosis de 50 y de 100 U. I. Todos los registros se calificaron visualmente identificando las fases de vigilia (V), sueño de ondas lentas (SOL) y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR).

**Resultados:** Se demostró que la aplicación de 50 y 100 U. I. de penicilina en la amígdala induce el aumento en la latencia del sueño, es decir que el tiempo de inicio de instalación de las fases de SOL y de sueño MOR fue mayor en comparación al control. En relación al número de veces que se presentaron los episodios de V, SOL y sueño MOR, éstos disminuyeron en comparación al control. El tiempo de duración de las fases de V y SOL aumentó significativamente, mientras que el tiempo de duración de la fase de sueño MOR fue significativamente menor. El porcentaje del tiempo total de la fase de sueño MOR fue significativamente menor en comparación al control

mientras las fases de V y SOL no tuvieron cambios. En el análisis de la acumulación por hora de cada fase, se observó el deterioro del sueño durante las primeras 24 horas acumuladas del registro, provocando mayor deterioro la dosis de 100 U. I. de penicilina y siendo la fase de sueño MOR, la fase más afectada. Finalmente en el análisis por los periodos de luz y oscuridad, se encontró que durante el primer periodo de luz la actividad epiléptica provocó el aumento del porcentaje del tiempo total de la fase de V y la disminución de éste en las fases de SOL y sueño MOR. Durante el periodo de oscuridad, se observó el aumento del porcentaje de SOL y la disminución del porcentaje de V; en este periodo el sueño MOR no tuvo cambios significativos, en el segundo periodo de luz se observó que el porcentaje de las fases de V y de SOL no tuvieron diferencias significativas, mientras que el sueño MOR aún se observó disminuido en comparación al control.

**Conclusión:** Se sugiere, en relación al SOL, que el hipotálamo anterior, que corresponde a la región preóptica y núcleo supraquiasmático, el cual promueve al sueño, está siendo inhibido durante la actividad epiléptica y por lo tanto al disminuir el SOL hay un aumento de V, pero al disminuir la actividad epiléptica, se cree que el sitio que promueve la instalación del SOL ya no está siendo inhibido favoreciendo así la presencia del SOL, el cual incrementó durante el periodo de oscuridad. En relación al sueño MOR se sabe que el núcleo central de la amígdala participa en la modulación y muy probablemente en la instalación de esta fase, por lo tanto se sugiere que la amígdala junto con otras estructuras como es la región parabraquial (PBL) y el núcleo pedúnculo pontino tegmental (PPT), que también se han descrito participan en la inducción y mantenimiento del sueño MOR, estarían siendo afectados importantemente por la epilepsia y probablemente en cuanto la actividad epiléptica disminuye y la fase de SOL alcanza a los valores control, éstos núcleos empiezan a promover la instalación del sueño MOR.

## INTRODUCCIÓN

Los problemas psicológicos, orgánicos o trastornos neuronales como la epilepsia, son algunas de las causas por las que se modifica el sueño y la privación de éste, promueve cambios fisiológicos, conductuales y de organización del mismo, de ahí que el estudio del sueño es de sumo interés.

En estudios clínicos realizados en pacientes epilépticos se ha reportado que uno de los principales problemas que presentan los pacientes, es el deterioro gradual de la organización del sueño y la vigilia, en estos estudios se señala que durante el día los pacientes están somnolientos y durante la noche presentan crisis epilépticas, lo cual impide que vuelvan a conciliar el sueño (Malow y cols., 1997). En general, ya se ha reportado que la epilepsia tiene un efecto directo en el sueño y éste a su vez sobre la epilepsia (Bazil, 2003; López y cols., 2004).

El gato a sido uno de los animales que más se ha empleado en el estudio del sueño y del cual se han encontrado hallazgos que son la base de muchos estudios (Datta, 1997; Gillin y cols., 1993). Actualmente la rata es utilizada para el estudio del sueño (Datta y Hobson, 2000) y de la epilepsia (Nissinen y cols., 2000).

En relación a los estudios de sueño y epilepsia con animales, se han utilizado modelos experimentales de epilepsia, como el *kindling* (Goddard y cols., 1969), el cual es un modelo experimental que induce crisis epilépticas por la estimulación eléctrica repetida, corta y de baja intensidad en ciertas áreas del cerebro, por ejemplo la amígdala del lóbulo temporal. Con este modelo se ha observado que al estimular la amígdala se induce la reducción significativa del porcentaje del sueño MOR en registros de 24 horas en gatos (Shouse y Serman, 1981). En otro estudio, en el cual también se empleó el *kindling* eléctrico amigdalino, se reportó la disminución de la duración y frecuencia del sueño MOR y el incremento de la vigilia (Tanaka y Naquet, 1975) o bien, el *kindling* eléctrico en el hipocampo, también aplicado en gatos, produjo la disminución del sueño MOR (Rondouin y cols., 1980).

Por otro lado, también se han realizado estudios en donde se ha observado la influencia del sueño sobre la epilepsia y desde hace muchos años se ha reportado que el SOL facilita la generalización de las crisis, mientras que el sueño MOR las reduce (Cadilhac y Passouant, 1964; Gastaut y cols., 1965). Asimismo, mediante el *kindling* amigdalino en gatos, se a encontrado que

las espigas interictales incrementan durante el SOL en comparación a la vigilia y que durante el sueño MOR no están presentes (Sato y Nakashima, 1975; Tanaka y Naquet, 1975). En trabajos más recientes se ha observado, que después de la aplicación sistémica o tópica de penicilina en gatos, la actividad epiléptica predomina durante el SOL y declina o desaparece durante el sueño MOR (Shouse y cols., 2000; Fernández-Guardiola y cols., 1995).

Los resultados que hasta ahora se han obtenido, han generado una serie de preguntas en relación a cuales son las estructuras que participan en la interacción del sueño y la epilepsia, y se ha encontrado que la amígdala del lóbulo temporal, participa tanto en el sueño como en la epilepsia. En estudios realizados sobre la amígdala del lóbulo temporal, se ha reportado que ésta presenta daño neuronal en una extensa población de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal (Pitkänen y cols., 1998). Por otro lado, en un estudio realizado en monos en donde se lesionó ambas amígdalas con ácido iboténico, se reportó un incremento del tiempo total del sueño y de la fase de sueño MOR, en comparación con los monos con menor lesión amigdalina, sugiriendo que la amígdala podría participar en la regulación del sueño, además de ser importante mediadora de los efectos del estrés y las emociones sobre el sueño (Benca y cols., 2000). Los trabajos que hasta el momento se han realizado, en relación a la amígdala del lóbulo temporal, han coincidido en que la amígdala juega un papel primordial en la regulación del sueño a partir de su núcleo central, que tiene proyecciones al tallo cerebral, el cual involucra regiones que están relacionadas con alertamiento y sueño MOR (Deboer y cols., 1998). Por lo tanto, en el presente estudio se analizó la organización temporal de las fases de sueño y vigilia durante la epileptogénesis y el establecimiento de crisis inducidas por la aplicación tópica de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal de rata en registros de 36 horas.

## **CAPÍTULO 1.**

### **EL SUEÑO.**

Al sueño se le puede definir como un estado natural caracterizado por la reducción de actividad motora voluntaria, un decremento para responder a estímulos, es decir que el umbral incrementa y también se caracteriza por presentar movimientos y posturas involuntarias. El sueño se distingue claramente de otros estados de conciencia, tal como el coma y la anestesia, ya que el sueño es fácilmente reversible (Fuller y cols., 2006).

En relación al estudio del sueño se han realizado numerosas investigaciones en diferentes especies animales. Por ejemplo, en peces y anfibios se ha encontrado, que conductualmente estas especies muestran respuestas de reposo similares a las observadas durante el sueño, sin embargo su actividad electrográfica aún es difícil de clasificar como actividad de sueño o vigilia (Hobson, 1967). Por otro lado en los reptiles se ha podido definir claramente al sueño y a la vigilia, siendo éstos los primeros seres vivos en la escala filogenética que presentan actividad típica del SOL, tanto en sus características conductuales como electroencefalográficas. Continuando en la escala evolutiva, las aves son las primeras en tener sueño MOR con características electroencefalográficas altamente diferenciadas (Klein y cols., 1964; Walker y Berger, 1972). En los mamíferos que se ha logrado estudiar el sueño, se ha observado que aunque la cantidad y cualidad del sueño varía en cada uno, éstos exhiben signos electrofisiológicos diferenciados como son el SOL y el sueño MOR, los cuales están acompañados de respuestas conductuales propias de estas fases (Campbell y Tobler, 1984).

Es importante mencionar que también se ha estudiado el sueño durante el desarrollo neonatal y se ha encontrado, que las fases de sueño y vigilia presentan una distribución y características electroencefalográficas diferentes a las de los adultos. Por ejemplo, Jouvet-Mounier y colaboradores (1970), reportaron que los mamíferos recién nacidos tienen una forma inmadura de sueño MOR, llamado sueño activo, el cual abarca un 90 % del tiempo total de sueño, y conforme va madurando el sistema nervioso esta fase va disminuyendo (Jouvet-Mounier y cols., 1970). Por tanto el sueño en el neonato, se ha caracterizado por tener tres fases: vigilia, sueño quieto y sueño activo (Jenni y cols., 2003). Aunque la clasificación que más se reconoce de las diferentes fases del sueño en los neonatos es la fase de sueño regular y la fase de sueño irregular

(Corsi, 1983).

### 1.1 Las fases de sueño.

El avance que tuvo el estudio del sueño en el humano y en otras especies animales, se debió al surgimiento del electroencefalograma (EEG). En 1929, Berger logró registrar por primera vez la actividad eléctrica cerebral de un humano (Berger H, 1929). En 1937, Loomis y colaboradores observaron en el EEG, que durante el dormir la actividad eléctrica cerebral cambia constantemente en frecuencia y voltaje, clasificando por primera vez al sueño en diferentes fases de la A la E según la actividad bioeléctrica registrada a través del cuero cabelludo en el humano (Loomis y cols., 1937). En 1953, Nathaniel Kleitman y Eugen Aserinsky, mostraron por medio de registros EEG en humanos, que durante el sueño se presentaban periódicamente dos componentes muy diferentes, a uno lo denominaron sueño de movimientos oculares rápidos, debido a los movimientos que presentaban los ojos de los sujetos durante el dormir y al otro componente lo clasificaron como sueño de ondas lentas, ya que se caracterizaba por presentar en el EEG actividad de ondas lentas, (Aserinsky y Kleitman, 1953), conocidos por sus siglas como sueño MOR y SOL respectivamente.

Con la finalidad de lograr un consenso con todo lo que se había avanzado en el estudio electroencefalográfico del sueño, Rechtschaffen y Kales establecieron un criterio para clasificar las distintas fases de sueño en el humano, denominándolas vigilia, SOL I, II, III y IV y sueño MOR (Rechtschaffen y Kales, 1968). La fase III y IV del SOL actualmente se le conoce como fase *delta*.

Cabe mencionar además, que la fase de sueño MOR esta acompañada por ensoñaciones que son de tipo discontinuo, incongruentes en el tiempo y el espacio, complejas y con contenido emocional, dichas ensoñaciones son típicas de ésta fase (Jouvet, 1998).

### 1.2 El Sueño en el Humano.

#### 1.2.1 Descripción de la actividad EEG de las fases de vigilia y sueño en el Humano.

##### *Vigilia.*

La fase de vigilia se caracteriza por actividad de alta frecuencia y baja amplitud. El rango típico de frecuencia de la actividad EEG con los ojos abiertos es de 12 a 30 Hz y se le nombra actividad *beta*. La actividad *alfa* es de 8 a 13 Hz y se presenta al cerrar los ojos, ésta se registra

en regiones parietooccipitales. Ocurren movimientos oculares y el tono muscular se encuentra elevado.

### *SOL.*

#### *Fase I*

Es el periodo de transición entre la vigilia y el sueño. El EEG se caracteriza por una combinación de voltaje muy bajo o aplanado con predominio de actividad de 2 a 7 Hz y esporádica actividad *beta*. En esta fase el ritmo *alfa* no está presente. Los movimientos oculares son lentos y el tono muscular disminuye ligeramente.

#### *Fase II*

Esta fase se caracteriza por la aparición de husos de sueño de 12 a 14 Hz con una amplitud creciente y una duración mínima de 1 a 2 segundos, es decir que alterna con la actividad *beta*. Los complejos “K” también son característicos de ésta fase, se observan como ondas bien definidas con un componente negativo agudo seguido inmediatamente de uno positivo y pueden estar o no integrados a un huso de sueño. Además, durante ésta fase se registra actividad *delta* de 0.5 a 2.0 Hz de alto voltaje. El tono muscular continúa disminuyendo.

#### *Fase III*

En esta fase se observan husos de sueño más aislados y hay un predominio de actividad *delta* que va del 20 al 50 %. El tono muscular continúa disminuyendo.

#### *Fase IV*

Es la fase en que la actividad *delta* está presente hasta un 70 % con duración promedio de 20 a 40 minutos. Los husos de sueño han desaparecido. Los movimientos oculares son lentos y el tono muscular se encuentra muy disminuido.

### *Sueño MOR.*

Se caracteriza por la reaparición de actividad de bajo voltaje y alta frecuencia (*beta*), similar a la observada en la fase I del SOL o durante la vigilia. Los movimientos oculares son rápidos y el tono muscular está totalmente disminuido, aunque en ocasiones se presentan ligeras contracciones. En ésta fase se presentan las ensoñaciones (Rechtschaffen y Kales, 1968; Corsi, 1983; Jouvet, 1998).

### 1.2.2 Estructuras inductoras de las fases de vigilia y sueño.

#### *Vigilia.*

Los primeros estudios que proporcionaron información relacionada al funcionamiento y anatomía implicados en la vigilia, fueron realizados por Bremer. Él realizó un corte en el tallo cerebral de gatos en un nivel inferior, entre médula y espina dorsal, y mediante registros EEG, observó signos conductuales y eléctricos correspondientes a un estado insomne pero intensificado. A esta preparación se le conoce como *encéphale isolé* o encéfalo aislado. Con este procedimiento Bremer demostró que el cerebro se mantenía despierto sin necesidad de recibir señales de los receptores de la piel y articulaciones. En otra preparación pero ahora seccionando a nivel del tallo cerebral superior, Bremer observó que los gatos se mantenían en una somnolencia permanente. En el EEG observó actividad típica de ondas de sueño. A esta manipulación experimental se le conoce como *cerveau isolé* o cerebro aislado. Bremer concluyó que al estar desconectado por completo el cerebro anterior de todo estímulo sensorial, el gato se mantiene dormido (Bremer, 1935).

En 1949, Moruzzi y Magoun demostraron que la estimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica (FRM) en gatos anestesiados o con encéfalo aislado promueve la vigilia. Estos autores observaron que la estimulación eléctrica de bajo voltaje y alta frecuencia a dicha estructura, provocaba desincronización en el EEG. También describieron que la lesión de la FRM producía un estado comatoso seguido de una reducción a largo plazo de la fase de vigilia. Además encontraron que el sistema bulbo raquídeo inhibe a la FRM, esto lo comprobaron cuando seccionaron por completo el bulbo, justo por debajo del mesencéfalo, generando a un animal con un prosencéfalo que se mantenía despierto la mayor parte del tiempo. El hipotálamo posterior rostral al mesencéfalo también está involucrado en la inducción de la vigilia, ya que al estimularlo eléctricamente se produce un despertar similar al generado por la estimulación de la FRM, por tanto Moruzzi y Magoun determinaron que la vigilia era resultado de la activación de la formación reticular del tallo cerebral, al cual denominaron como Sistema Reticular Activador Ascendente (Moruzzi y Magoun, 1949). Actualmente se sabe que células del *locus coeruleus* (noradrenergicas) y del núcleo del *rafe* (serotoninérgicas) participan en los mecanismos que promueven a la vigilia (Datta y cols, 2007).

### *SOL.*

Uno de los primeros estudios del sueño en donde se reportó la participación del núcleo dorsal del *rafe* como estructura inductora de la sincronización del EEG, fue realizado por Jouvet en 1972. Él encontró que al lesionar completamente al sistema del *rafe*, desde la médula superior hasta la unión ponto-mesencefálica en gatos o al administrarles PCPA (paraclorofenilalanina) como inhibidor de la biosíntesis de serotonina, indujo insomnio, el cual por la lesión, duraba de 3 a 4 días y por la inhibición farmacológica, el efecto se revertía al restablecerse la síntesis de serotonina (Jouvet, 1972).

Por otro lado también se ha reportado que, el núcleo del tracto solitario de la médula, participa en la sincronización del EEG, ya que al estimularlo eléctricamente, utilizando bajas frecuencias, se produce sincronización en el EEG (Magnes y cols., 1961). Además, también se ha descrito que el núcleo del *rafe* está relacionado con el tracto solitario, ya que éste recibe proyecciones de células serotoninérgicas a través del ganglio nodoso (Puizillout y cols., 1979).

Continuando con los estudios del sistema del *rafe* y la relación que tiene con el sueño, se ha reportado, utilizando la combinación de la técnica de transporte retrogrado e inmunohistoquímica en cerebro de ratas, que las proyecciones serotoninérgicas del *rafe* llegan hasta los núcleos del tálamo (Consolazione y cols., 1984). También, por medio de un marcador retrogrado inyectado a todos los núcleos del tálamo, se ha encontrado que el núcleo dorsal del *rafe* tiene proyecciones al núcleo intralaminar y reticular en gatos (Steriade y cols., 1988; Paré y cols., 1988) y aunque se ha demostrado en trabajos posteriores que el sistema del *rafe* no tiene un papel preponderante en el sueño, ya que su mayor actividad se da durante la vigilia, Jouvet pudo concluir que la liberación de serotonina durante la vigilia, permite la regulación homeostática del sueño de ondas lentas (Jouvet, 1999).

Por otro lado, actualmente se sabe que el núcleo reticular del tálamo es el marcador de sincronización del EEG de los husos de sueño (Steriade, 2003). Los cuales se caracterizan por oscilaciones de 7 a 14 Hz en gatos, de 12 a 15 Hz en humanos y aproximadamente de 12 Hz en corteza frontal y 14 Hz en corteza parietal en rata (Zygierevicz y cols., 1999). Esta actividad proveniente del núcleo reticular del tálamo, se comunica a la corteza mediante conexiones talamocorticales, generando los husos en la neocorteza, los cuales se pueden registrar con el EEG

en la superficie (Avanzini y cols., 2000).

Áreas como el hipotálamo y la región preóptica, también participan en los signos EEG del sueño. Von Economo a través de sus observaciones anatómicas y clínicas en pacientes con encefalitis letárgica (pacientes que se pasaban la mayor parte del tiempo dormidos), encontró que tenían lesionado el hipotálamo posterior y la parte rostral tegmental del encéfalo medio (Von Economo, 1929). Posteriormente, en 1940 se determinó que el centro de la vigilia se encontraba en el hipotálamo posterior y que el hipotálamo anterior que corresponde a la región preóptica y núcleo supraquiasmático, promovía al sueño, ya que al producir una lesión en la parte rostral del hipotálamo y del cerebro anterior basal, en ratas y gatos, se producía insomnio y posteriormente la muerte (Nauta, 1946; Saper y cols., 2001).

#### *Sueño MOR.*

En observaciones clínicas del sueño en recién nacidos, Aserinsky y Kleitman describieron que periódicamente los bebés movían los ojos con rapidez y sin abrirlos. Posteriormente bajo registros EEG, vieron que estos movimientos oculares rápidos se acompañaban de ritmos rápidos, semejantes a los que suceden en vigilia, además también reportaron patrones respiratorios periódicos que se presentaban en conjunción con los movimientos de los ojos. Estos hallazgos los pudieron corroborar en el adulto, reportando que estos periodos se presentaban en ciclos que aparecían 4 o 5 veces durante la noche y que surgían después de las fases II, III ó IV (Aserinsky y Kleitman, 1953; Kleitman, 1963; Aserinsky, 1965 ). Estos hechos dieron pie a que creciera el interés por estudiar al sueño y en particular ésta fase, la que actualmente conocemos como sueño MOR.

A partir de los años 60s Jouvett estableció el carácter independiente de la función neuronal de ésta fase. Utilizando técnicas de lesión restringida en diversas regiones neuronales, lo llevaron a concluir que, aunque no hay un centro que se haya demostrado como el único orquestador neuronal del sueño MOR, el núcleo reticular pontis caudalis, ventral al núcleo *locus coeruleus*, es la región cerebral más implicada en la producción del sueño MOR, ya que al lesionarla se inducía una supresión de la fase MOR, también demostró que el *locus coeruleus alfa* está encargado de la atonía postural, ya que mediante lesiones bilaterales a este nivel, se suprime la atonía postural

del sueño MOR. De lo anterior, Jouvet contribuyó a completar los análisis hechos de la fase de sueño MOR, quedando como un complejo de signos eléctricos y conductuales que incluyen, la activación de los ritmos corticales, la actividad de banda *Theta* (4 - 10 Hz) en el hipocampo, las descargas de espigas y ondas agudas, conocida como PGO (ponto-genículo-occipitales), la atonía muscular, específicamente de los músculos antigravitatorios y las salvas de movimientos oculares rápidos (Jouvet y cols., 1963; Jouvet, 1998).

Estudios más recientes de la fase de sueño MOR han reforzado lo planteado por Jouvet, por ejemplo, en relación a la activación de los ritmos corticales se ha descrito que células del núcleo magnocelular que se ubica en la formación reticular medular, incrementan su disparo en la transición de la fase de SOL a sueño MOR, presentando su máximo de disparo durante el sueño MOR, de estos resultados se propone que las células de la formación reticular medular, actuarían en conjunto con las neuronas de la FRM para controlar la activación de los ritmos corticales durante el sueño MOR (Datta y MacLean, 2007).

En relación a la actividad de ondas *Theta*, se reportado la participación de células del pontis oralis, las cuales comunican al septum del hipocampo en donde actúan células GABAérgicas y colinérgicas (Vertes y Kocsis, 1997). Como característica particular del sueño MOR en la rata, se demostró que el aumento de la amplitud de las ondas *Theta* durante ésta fase está influenciada por la conexión que hay con el generador de los potenciales PGO y el hipocampo dorsal (Karashima y cols., 2004). Esta relación involucra mecanismos de aprendizaje y memoria (Datta y cols., 2005).

Los potenciales PGO están presentes durante el periodo de transición del SOL al sueño MOR y durante el sueño MOR en gato (Sakai y Jouvet, 1980). En la rata se ha descrito una onda espiga equivalente a la PGO, a ésta se le denomina onda pontina (onda "P") ya que también ocurre en el puente durante el sueño MOR (Sakai y Jouvet, 1980; Datta, 1997). En relación a la participación de estos potenciales se ha demostrado, con la aplicación de carbacol en regiones como el PBL, la inhibición de las espigas epilépticas inducidas en gato (Ramírez y cols., 2008) y en ratas con privación de sueño MOR, se reportó que la aplicación de carbacol en el área inductora de ondas "P" previno el deterioro del aprendizaje en pruebas de condicionamiento (Datta y cols., 2004). Cabe señalar que el nombre PGO se determinó por las primeras áreas en donde se

registraron los potenciales en el gato, en este caso el generador se localiza en la formación reticular pontina, de ahí se propaga al cuerpo geniculado lateral y a la corteza occipital (Jouvet, 1998). Estos potenciales también se propagan a diferentes sistemas sensoriales y a varias estructuras del sistema límbico, como la amígdala, el hipocampo y el cíngulo (Calvo y Fernández-Guardiola, 1984). Un estudio neuroanatómico demostró que las células generadoras de las ondas “P” de rata proyectan al hipocampo, amígdala, corteza entorinal, corteza visual y demás áreas que participan en procesos cognitivos (Datta y cols., 1998).

Por otro lado, se sabe de la participación de un mecanismo aminérgico (serotoninérgico y noradrenérgico) que disminuye lentamente y un mecanismo colinérgico que se activa, cuando la fase de sueño MOR inicia. Esta activación colinérgica se ubicó en células del núcleo PPT, estas células muestran un aumento de actividad durante el sueño MOR y una disminución de ésta actividad al término del sueño MOR (Datta y MacLean, 2007).

### **1.3 El Sueño en la Rata.**

Debido a que el presente estudio fue realizado en ratas se hace una revisión muy breve de las características de éste.

Al sueño de la rata lo han denominado polifásico ya que tiene la particularidad de que las fases de sueño y vigilia se presentan repetida y alternadamente a lo largo de las 24 horas del día. También, se reporta que las fases de sueño se presentan principalmente durante el periodo de luz. Takeuchi reportó que por lo menos hay el 69.2 % de sueño y el 30.8 % de vigilia en el periodo de luz y el 34.3 % de sueño y el 65.7 % de vigilia en el periodo de obscuridad (Takeuchi, 1970). Por otro lado, Weiss reportó en registros de 24 horas de sueño en ratas que al menos el 41.5 % es de la fase SOL y el 13.5 % de la fase de sueño MOR (Weiss y Roldan, 1964).

Existe un criterio para describir las conductas de sueño y la actividad eléctrica cerebral de la rata, dicho criterio describe las diferentes fases de sueño que ya han sido clasificadas en otros mamíferos, y aunque se han reportado hasta 7 fases que se localizan a lo largo del registro de sueño y entre la transición de cada una de las fases (Gottesmann, 1992), en la mayoría de los estudios se describen únicamente la fase de V, SOL y sueño MOR, sin olvidar que en algunos casos se estudia a la V en su fase activa y quieta y al SOL en ligero y profundo (Datta y Hobson,

2000), según el interés del investigador estos criterios pueden o no ser considerados. Para el presente estudio se consideraron únicamente las fases de V, SOL y sueño MOR.

Cabe mencionar que para el estudio electrofisiológico del sueño en rata se pueden implantar electrodos en la corteza prefrontal (Cpf), en el canto externo del ojo (EOG) o músculo dorsal del cuello (EMG) (Datta y Hobson, 2000) y a nivel subcortical, específicamente en el hipocampo, también se puede colocar un electrodo que se utiliza para registrar la actividad *Theta* (4-10 Hz), la cual se presenta de manera sostenida durante el sueño MOR (Jouvet y cols., 1963; Jouvet, 1998). De este modo estos sitios se han caracterizado por ser propicios para el estudio de las fases de sueño en la rata (Datta y Hobson, 2000). Para el presente estudio se implantaron electrodos en la corteza prefrontal, en el músculo dorsal del cuello y en el hipocampo. El registro de la amígdala se utilizó para observar la latencia del inicio de la actividad epiléptica.

### **1.3.1** Descripción de la conducta y actividad EEG de las fases de vigilia y sueño en la rata.

#### *Vigilia.*

##### Conducta.

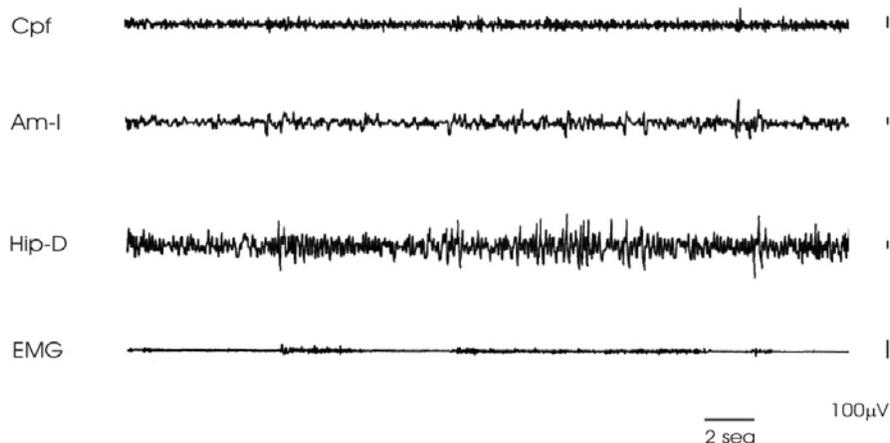
En ésta fase se observan dos estados, el primero llamado vigilia activa, es cuando la rata se mantiene en constante actividad ya sea husmeando, comiendo, acicalándose, caminando y el segundo llamado vigilia quieta que es cuando la rata se queda en un sólo sitio inmóvil, puede estar acostada sobre su abdomen con ojos abiertos y puede tener la cabeza levantada o inclinada sobre el piso (Datta y Hobson, 2000).

##### Actividad eléctrica cerebral.

Durante la vigilia activa, las ondas que predominan en el EEG de corteza prefrontal son de 40 - 60  $\mu$ V y de 35 - 50 Hz. El electromiograma (EMG) presenta tono muscular alto y en ocasiones disparos que coinciden con los movimientos de cuello y cabeza de la rata, por ejemplo, al acicalarse. Dependiendo de la actividad de la rata los movimientos oculares se presentan aproximadamente de 1 a 5 de éstos en 10 segundos. La actividad eléctrica del hipocampo es de 5 - 13 Hz y ocasionalmente aparece ritmo *theta* de 7 - 9 Hz con una amplitud de 200  $\mu$ V (Gottesmann, 1992).

Durante la vigilia quieta las ondas que predominan en el EEG cortical no difieren de la

vigilia activa. La actividad eléctrica del hipocampo no tiene ritmo *theta*. El EMG se aplanan considerablemente en comparación a la vigilia activa (Datta y Hobson, 2000) (Figura 1).



**Figura 1.** Trazo poligráfico representativo de la actividad eléctrica cerebral durante la fase de vigilia en condiciones de control de una ratona en libertad de movimiento. Nótese la activación cortical (Cpf) y la actividad muscular (EMG). Corteza prefrontal (Cpf), Amígdala izquierda (Am-I), Hipocampo derecho (Hip-D) y electromiograma (EMG).

### *SOL.*

#### Conducta.

Durante ésta fase la ratona toma una postura en la que se acuesta sobre su abdomen y en ocasiones adquiere una posición enrollada y con los ojos cerrados.

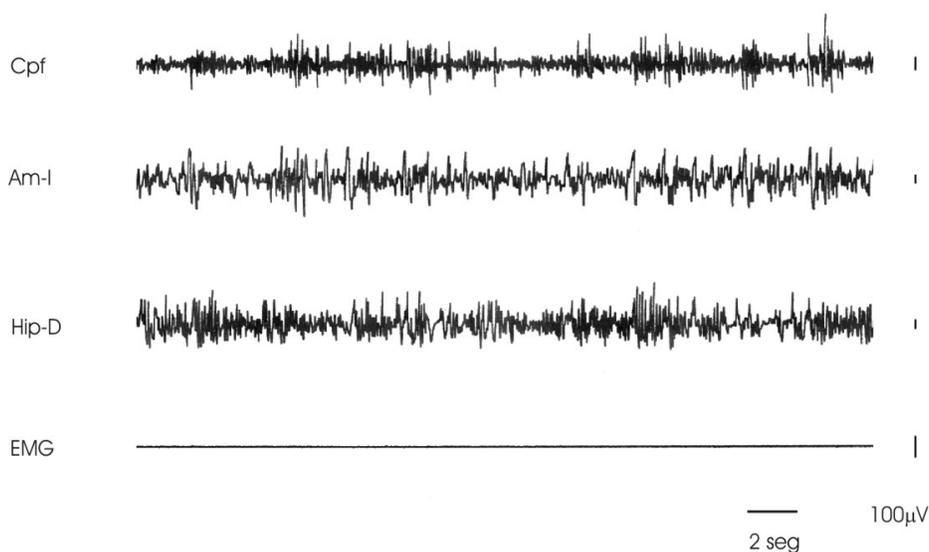
#### Actividad eléctrica cerebral.

Esta fase de sueño está caracterizada por ondas lentas corticales y subcorticales que progresivamente van incrementando en amplitud.

La actividad EEG del sueño de ondas lentas, se ha dividido en sueño ligero y sueño profundo (Takeuchi, 1970). A partir del sueño ligero se presentan los husos de sueño, aunque en menor cantidad comparados con el sueño profundo (aproximadamente < 2% del sueño total). La frecuencia del EEG varía de 2 a 10 Hz presentando una amplitud de 400 µV.

Durante el sueño profundo se observa el aumento en el número, amplitud y duración de los

husos de sueño. Su máxima amplitud puede llegar hasta  $510 \mu\text{V}$ . La frecuencia de los husos varía de 5 - 15 Hz y están intercalados con ondas lentas de 0.3 - 3.0 Hz (Gottesmann, 1992). En general durante el SOL, el EEG cortical presenta frecuencias de 0.1 - 10.0 Hz y su amplitud es de 200 - 400  $\mu\text{V}$ . El EMG se mantiene totalmente plano. La actividad eléctrica del hipocampo presenta punta onda de alta amplitud (Figura 2).



**Figura 2.** Trazo poligráfico representativo que muestra la fase de SOL en condiciones de control de una rata en libertad de movimiento. Nótese la aparición de husos de alto voltaje en Cpf y la disminución del tono muscular. Abreviaturas como en Figura 1.

### *Sueño MOR.*

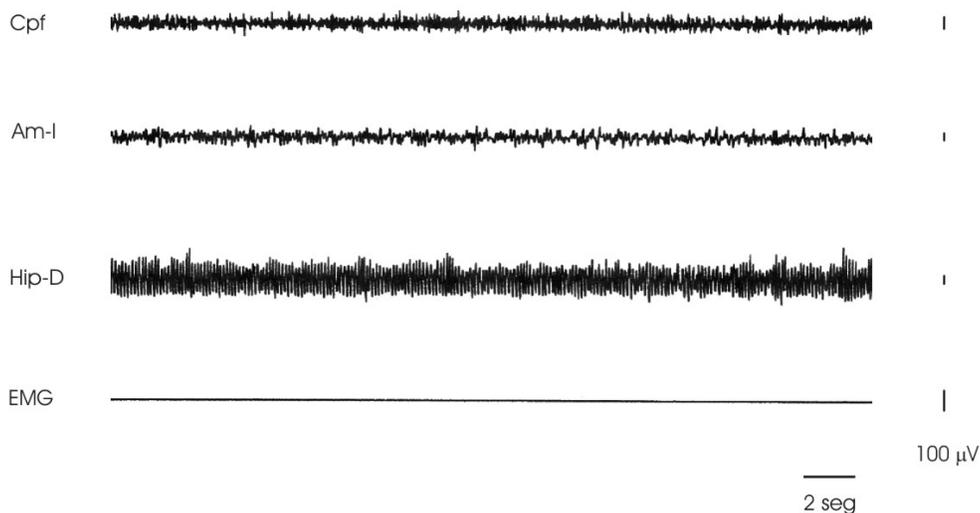
#### Conducta.

La rata presenta una posición de ovillo es decir que está enrollada con la cabeza oculta pegada al cuerpo. En ocasiones presenta movimientos espontáneos de todo el cuerpo o de las extremidades y también tiene movimientos de las vibrisas (bigotes) y orejas.

#### Actividad eléctrica cerebral.

El EEG cortical es de 20 - 40 Hz y de 50 - 80  $\mu\text{V}$ . Presenta atonía muscular, es decir que el EMG está totalmente aplanado. Los movimientos de los ojos aumentan considerablemente. La actividad eléctrica del hipocampo presenta ritmo *theta* de 5 - 7 Hz (Datta y Hobson, 2000).

Para otros autores el voltaje del sueño MOR puede variar de 50 hasta 150  $\mu\text{V}$  y siempre es uniforme (Takeuchi, 1970; Corsi y cols., 1975) (Figura 3).



**Figura 3.** Trazo poligráfico representativo que muestra la fase de sueño MOR en condiciones de control de una rata en libertad de movimiento. Nótese el tono muscular completamente disminuido y la presencia de actividad *Tetha* del hipocampo. Abreviaturas como en Figura 1.

## CAPÍTULO 2.

### LA EPILEPSIA.

En el pasado existía la creencia popular de que la epilepsia era contagiosa, de hecho las personas se negaban a usar el mismo plato de alimentos de los pacientes. Al inicio del cristianismo, la iglesia discriminaba a los epilépticos ya que los consideraban poseídos, decían que temían al poseído porque pensaban que podía profanar los objetos santos y podía infectar la copa y plato de la comunión. De ahí que se le nombró “epilepsia” a este mal, que en griego significa apoderarse o posesionarse (International League Against Epilepsy, 2003).

Durante la Edad Media (siglo XIII) Berthold de Regensburg, un predicador alemán, escribió del carácter contagioso de la epilepsia, decía que su respiración era “mala”. En el siglo XV un profesor escribió “Por lo tanto, nadie hable y no se bañen con ellos ya que, por su simple respiración, ellos infectan a las personas”. En el siglo XVIII, aún se creía que la epilepsia era

contagiosa. A finales del siglo XIX, algunos autores reportaron que las personas con epilepsia eran propensos a la violencia y éxtasis religioso, supuestamente causada por ansiedad y alucinaciones. Posteriormente fue incrementando el interés a nivel psiquiátrico, es decir que estaban más inclinados a los estudios de la conducta en pacientes con epilepsia y se enfocaban principalmente a las crisis o al desarrollo de la epilepsia (International League Against Epilepsy, 2003). Actualmente cuando se habla de epilepsia se piensa en un trastorno o perturbación paroxística o ataques, olvidando los estigmas que se asocian con el término epilepsia (Massieu, 1976).

En la actualidad se sabe que entre el 1 y 2 % de la población mundial padece algún tipo de epilepsia. Se considera que en los países subdesarrollados se presentan las cifras más altas, debido al pobre desarrollo de saneamiento ambiental, lo cual pone en riesgo a toda la población de padecer enfermedades parasitarias e infecciosas o por las zonas alejadas donde carecen de servicios de salud, en donde muchos de los partos se hacen bajo condiciones precarias, lo cual puede traer como consecuencia que los niños nazcan con problemas neuronales (International League Against Epilepsy, 2003).

## **2.1 Definición de Epilepsia.**

Algunos autores definen a la epilepsia como una alteración manifestada por una serie de signos y síntomas con una fisiopatología común, representada por una hipersincronía de descargas neuronales y un reclutamiento anormal de los impulsos nerviosos. Pero que la etiología, mecanismos neuroquímicos y fisiológicos, así como la expresión sintomática, son variables que no están bien esclarecidas en la actualidad (Brailowsky y Otero, 1991). Otra definición menciona, que las epilepsias constituye un grupo de alteraciones de las funciones cerebrales, que tienen la característica común de interferir con la vigilia o con el sueño en forma súbita y recurrente, a través de ataques de duración variable de segundos a horas que se acompañan de contracciones musculares, parciales o generalizadas y que tienen en común la activación intensa de grupos neuronales del sistema nervioso central (Fernández-Guardiola, 1986). En general estas definiciones coinciden en que es una alteración que se manifiesta por signos y síntomas, que hay un aumento en la activación neuronal y que en muchas ocasiones se desconoce su origen. Los fenómenos paroxísticos son crisis o ataques que manifiesta el paciente y según las características EEG y

manifestaciones clínicas se determina el tipo de crisis. En la actualidad se conocen cuatro clasificaciones de las crisis, 1) crisis parciales o focales, 2) crisis generalizadas, 3) crisis no clasificadas y 4) addendum (Feria, 1989).

### **2.1.1 Clasificación de las crisis.**

#### **a) Crisis Parciales.**

Se dividen en simples o complejas dependiendo de si hay o no pérdida de la conciencia, estas inician en un sitio o grupo de neuronas de un hemisferio. A ésta descarga localizada se le define como foco epiléptico. Dentro del grupo de las crisis parciales se describen cuatro clasificaciones, 1) crisis motoras, 2) sensitivas, 3) autonómicas y 4) psíquicas, ya que dependiendo la ubicación del foco, es la manifestación clínica de las crisis. Las crisis focales también pueden generalizarse o propagarse a otras estructuras, a este tipo de crisis se les conoce como crisis focales secundariamente generalizadas, cuya respuesta EEG es una actividad tónico clónica sostenida (Feria, 1989).

#### **b) Crisis Generalizadas.**

Estas crisis involucran ambos hemisferios, es decir que la aparición de la crisis es simultánea en todo el cerebro, en la mayoría de las crisis hay pérdida de la conciencia y ésta puede ser el primer indicio o manifestación de una crisis. Las manifestaciones motoras son bilaterales. La actividad EEG ictal se presenta en ambos hemisferios (Feria, 1989).

#### **c) Crisis no clasificadas.**

Son crisis en las que no se puede determinar su origen o foco, es decir, que son todas aquellas crisis que no se pueden ubicar en algún grupo ya definido (Feria, 1989).

#### **d) Addendum.**

Son crisis que se presentan fortuita y repentinamente que no tienen ninguna provocación clara. Las crisis están relacionadas a eventos que se comportan de manera cíclica en intervalos regulares, por ejemplo relacionados al ciclo menstrual o al ciclo sueño y vigilia. Son aquellas crisis provocadas por estímulos no sensoriales (Nuñez, 2004 y Feria, 1989).

En general, las crisis epilépticas tienen en común varios aspectos como son: el inicio repentino, su duración corta de unos segundos a un par de minutos, lo impredecible de su

aparición, la recuperación del paciente que puede ser inmediatamente después de la crisis o unos minutos después de ésta. A ésta fase de recuperación se le conoce como periodo postictal, el cual puede estar acompañado de confusión o automatismos, seguido de somnolencia, cuerpo adolorido y dolor de cabeza. Finalmente, para que una crisis epiléptica se considere como epilepsia tiene que ser recurrente (Nuñez, 2004).

Los tipos de epilepsias o síndromes epilépticos incluyen el o los tipos de crisis, parcial o generalizada, la causa, localización anatómica, factores precipitantes, edad de presentación, severidad, cronicidad, relación con el ciclo del sueño y vigilia. Los tipos de epilepsia son: la Epilepsia del lóbulo temporal, la Epilepsia del lóbulo frontal, la Epilepsia benigna de la niñez, la Epilepsia parcial crónica progresiva, Ausencias de la niñez, Síndrome de West y Síndrome de Lennox Gastaut, entre otros (Nuñez, 2004).

## **2.2 Modelos experimentales de Epilepsia.**

La investigación experimental con humanos siempre presenta limitaciones metodológicas y éticas, lo que ha generado la necesidad de buscar modelos experimentales de epilepsia que sean semejantes a la epilepsia humana. Estos modelos experimentales han sido desarrollados en gatos, ratas y ratones, por mencionar algunos, y han sido muy útiles para crear nuevas terapias anticonvulsivas o para estudiar otros factores que se encuentran implícitos en la epilepsia, como por ejemplo la alteración del sueño. En estos modelos se pueden manejar técnicas invasivas, no invasivas o de ensayo farmacológico.

### **2.2.1. Modelos de epilepsia parcial.**

En estos modelos se han utilizado distintos epileptógenos que pueden ser aplicados tópicamente como, la crema de alúmina en la corteza de monos, que fue descubierta en 1942, por Kopeloff (Kopeloff y cols., 1942) o como la pilocarpina sistémica en rata, la cual desarrolla crisis espontáneas recurrentes, reportada por Turski en 1983 (Turski y cols., 1983). La toxina Tetánica, utilizada desde finales del siglo XIX, aplicada para estudios de epileptogénesis en la corteza de perros y gatos o en el hipocampo de ratas, ésta toxina produce sacudidas mioclónicas o crisis generalizadas tonico-clónicas y en el EEG se observa una actividad de punta-onda a una frecuencia

de 3 - 20 Hz (Jefferys y cols., 1995). El ácido kaínico, el cual tiene propiedades neurotóxicas, fue utilizado por Olney en 1974, él reportó la toxicidad particularmente del hipocampo, incluso por administración sistémica (Olney y cols., 1986). En estas crisis se observa principalmente, pérdida de la actividad, movimientos masticatorios seguidos de actividad motora compleja y posteriormente, puede llegar a desarrollar crisis generalizadas tónico clónicas. Cabe señalar que la mayor actividad electroconvulsiva se da en la región límbica (Granillo y cols., 2002).

El *kindling* (Goddard y cols., 1969) como otro modelo de epilepsia, el cual permite estudiar la epileptogénesis, fue realizado por Goddard en 1969, este método consiste en estimular eléctricamente ciertas áreas del cerebro a través de un electrodo, los estímulos (0.1 ms y 0.2 a 1.0 mA) se dan en forma de trenes a 60 Hz, durante un segundo aplicados cada 24 horas, la intensidad del estímulo se determina a partir de la obtención del umbral del estímulo. Después de varios días de estimulación, se observa que estímulos de bajo umbral son capaces de generar postdescargas acompañadas de manifestaciones típicas de las crisis clínicas convulsivas. En ocasiones la aparición de las crisis es espontánea (Granillo y cols., 2002).

### 2.2.2 Modelos de epilepsia generalizada.

Existen diversos modelos experimentales que han permitido estudiar la epilepsia generalizada de tipo tónico clónica. Por ejemplo los modelos genéticos de epilepsia como el del mandril o *Papio-papio* que es de tipo fotosensible y las crisis tipo audiogénicas en una cepa de ratón. La epilepsia fotosensible (Meldrum y Horton, 1971) del *Papio-Papio*, se induce mediante estimulación lumínica intermitente a frecuencias de 25 flashes por segundo (Killam y cols., 1967). Este tipo de epilepsia se caracteriza por descargas tónico clónicas generalizadas, las cuales continúan aún sin el estímulo generador. La epilepsia audiogénica de ratón (Purpura y cols., 1972) se induce mediante estímulos sonoros. Dicha actividad se caracteriza por una carrera rápida seguida de sacudidas clónicas.

El modelo de epilepsia inducido por penicilina es utilizado en la mayoría de los casos para inducir crisis parciales complejas y crisis generalizadas (Prince y Farrel, 1969; Fernández-Guardiola, 1992; Gloor y cols., 1977). Una manera de producir un foco epiléptico consiste en aplicar directamente la penicilina en la corteza cerebral o amígdala y minutos después se pueden

registrar espigas recurrentes semejantes a las observadas en un foco humano (Neuman, 1986; Fernández-Guardiola y cols., 1991). Este foco epiléptico se identifica por la presencia de espigas aisladas (actividad interictal) que poco a poco van cambiando en su morfología. Esta actividad se puede ver por medio del registro de la actividad cerebral, ya sea a nivel cortical o subcortical. Estas espigas se propagan a otras estructuras primero a nivel ipsilateral y posteriormente a nivel contralateral, manifestándose en crisis convulsivas (actividad ictal). La base para explicar ésta propagación es que la comunicación neuronal que se está llevando a cabo mediante potenciales de acción, ya sea para inhibir o para excitar, se ha vuelto anormal, es decir que la comunicación a través de la sinapsis está alterada, lo cual genera un proceso anormal hacia las demás neuronas, de ahí que se mantiene una actividad convulsiva autosostenida (Prince y Farrel, 1969).

Aún es poco claro el mecanismo por el cual actúa la penicilina, una de las primeras explicaciones es que al aplicarse en la corteza cerebral bloquea la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (Woodbury, 1980), sin embargo actualmente existe evidencia de que la penicilina bloquea al receptor GABAA que se encuentra en las terminales postsinápticas, lo que genera una inhibición de los potenciales postsinápticos inhibitorios (Avanzini y Fariello, 1997). También se ha descrito que la penicilina actúa bloqueando los canales de cloro, los cuales están acoplados a un sitio de reconocimiento para el GABA (Avoli, 1984; Olsen y Avoli, 1997).

### 2.3 Estadios conductuales de las crisis epilépticas.

Dentro del estudio experimental de la epilepsia existe un criterio para identificar las respuestas conductuales implícitas en las crisis, éste criterio fue formado por escalas o estadios establecido en la rata por Racine (Racine, 1972). Estas conductas son aplicables al modelo de epilepsia inducida por penicilina (Figura 4).

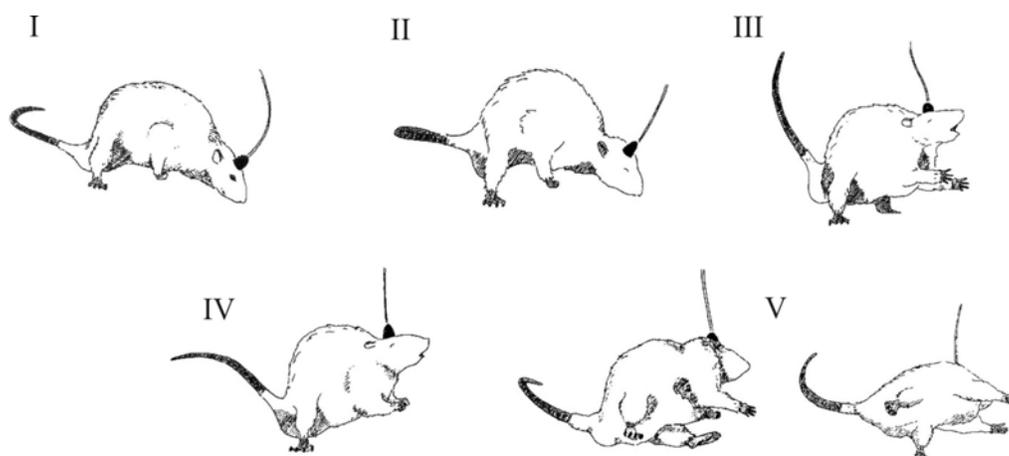
Estadio I. Se presenta clonias faciales contralaterales que puede estar acompañadas de retraimiento de cuello y giro de la cabeza ipsilateral al sitio de inyección.

Estadio II. Se presenta clonias faciales bilaterales con movimientos verticales de la cabeza, en ésta fase la rata aún permanece apoyada sobre sus cuatro extremidades.

Estadio III. Se presenta clonias de miembros anteriores, lo que hace que el animal se levante ligeramente sobre sus extremidades posteriores.

Estadio IV. En ésta etapa el animal se levanta sobre sus extremidades posteriores y presenta clonias de miembros anteriores, la diferencia de el estadio III, es que, el animal se mantiene más erguido (posición de canguro).

Estadio V. En ésta etapa el animal se levanta y cae de espaldas o de lado de manera repetitiva. Esta conducta se acompaña de masticación y en ocasiones de salivación abundante.



**Figura 4.** Estadios conductuales de epilepsia (Della y cols., 1997).

### **CAPÍTULO 3.**

#### **ESTUDIOS DEL SUEÑO Y LA EPILEPSIA.**

Como ya se ha reportado, dependiendo el periodo en el que inicie una crisis es decir, en la noche o durante la vigilia (Bazil y cols., 2000) y la severidad de ésta, el sueño estará importantemente afectado, mostrando una disminución principalmente de la fase de sueño MOR. Esta alteración además se acompaña de algunas afecciones tales como somnolencia excesiva, cansancio, depresión e irritabilidad durante el día y dificultad para iniciar y mantener el sueño durante la noche.

Por otra parte, también el sueño influye en la actividad epiléptica, se ha encontrado que el SOL facilita la actividad epiléptica, principalmente la generalizada (Samaritano y cols., 1991), mientras que durante el sueño MOR, ésta desaparece o en ocasiones pueden presentarse crisis

focales (Feria y cols., 1989; Calvo, 1991). A continuación se mencionan algunos trabajos que se han hecho en relación a la interacción del sueño y la epilepsia.

### **3.1 En el Humano.**

#### **3.1.1 Efecto de las crisis epilépticas sobre el sueño.**

El efecto que tiene la epilepsia sobre el sueño es de etiología muy compleja. Se ha sugerido que la epilepsia, la ocurrencia de las crisis, así como las drogas antiepilépticas están asociadas con la interrupción del sueño. Se ha visto que el efecto que tiene la epilepsia sobre el sueño depende del tipo y severidad de las crisis, por ejemplo, se ha encontrado que la epilepsia del lóbulo temporal es la que genera mas cambios en éste. En un estudio de sueño en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal se encontró que la mayor incidencia de las crisis ocurre durante la vigilia y que la organización del sueño se presenta más alterada (Crespel y cols., 1998 y 2000). En otro trabajo realizado también en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, se estudió el efecto que tienen las crisis parciales complejas sobre la estructura del sueño y se encontró que las crisis que se presentaban durante el día o la noche, reducían el sueño MOR, las crisis nocturnas también reducían al SOL en su fase II y IV, mientras que la fase I incrementaba. En general las crisis nocturnas fueron las que afectaron la eficiencia del sueño y la latencia al sueño MOR (Bazil y cols., 2000).

Algunos estudios que se han realizado en niños epilépticos se ha encontrado que la epilepsia puede afectar tanto la cantidad como la arquitectura del sueño (Declerck y cols., 1982). Se ha reportado que hay una alteración en el tiempo total y en la latencia del sueño y que además se presentan despertares espontáneos (Serman y cols., 1982). En pacientes con crisis generalizadas tónico clónicas se ha encontrado que tienen un decremento del 50 % del sueño MOR (Besset, 1982). También, se ha encontrado que los pacientes con crisis parciales complejas, las cuales ocurren únicamente en la noche, presentan una proporción de sueño MOR menor (Baldy-Moulinier, 1982).

Por otro lado, algunos fármacos antiepilépticos tienen efectos sobre el sueño. En un estudio piloto en donde se analizó el efecto de cuatro anticonvulsivantes (feniltolina, ácido valproico, gabapentina y carbamacepina), se encontró que estas drogas tienen efectos diferentes sobre la estructura del sueño dependiendo las características de las crisis, la edad del paciente y calidad de

vida, el sueño puede mejorar o deteriorarse aún más, por ejemplo, en pacientes con crisis de ausencia, la carbamacepina no modifica la arquitectura del sueño (Legros y Bazil, 2003). Aunque otros autores difieren con estos resultados ya que han observado una disminución del sueño MOR tanto en pacientes epilépticos como en sujetos sanos (Placidi y cols., 2000).

### **3.1.2 El papel del sueño sobre las crisis epilépticas.**

En 1947, Gibbs y Gibbs introducen el registro EEG de sueño nocturno como procedimiento diagnóstico en el estudio de la epilepsia, ya que desde entonces reconocieron la influencia del sueño en la activación de las descargas paroxísticas focales y generalizadas (Gibbs y Gibbs, 1947). En los años 70s dicho procedimiento es aplicado de forma sistemática, el cual fue considerado como instrumento de exploración de las epilepsias (Passouant y cols., 1965; Gastaut y cols., 1965). En 1962, se describió una correlación entre las crisis epilépticas y los ritmos de sueño y la vigilia, identificando tres tipos de epilepsia: epilepsia del despertar, epilepsia del sueño de origen temporal y epilepsia difusa de origen orgánico, que se caracteriza por la aparición de crisis tanto en vigilia como en sueño (Janz, 1974; Autret y cols, 1982).

#### **A) Crisis parciales simples y complejas.**

Las crisis parciales simples suelen pasar desapercibidas en los periodos de sueño y sólo se pueden detectar por medio de un registro polisomnográfico. Estas crisis pueden presentarse aleatoriamente durante la vigilia o el sueño. En general son crisis de una etiología muy variada (Janz, 1974; Autret y cols., 1982).

Las crisis parciales complejas son crisis que se comportan muy parecido a las crisis parciales simples, estas crisis pueden evolucionar a crisis generalizadas dependiendo del momento de su aparición en relación a las fases de sueño y vigilia, ya que se menciona que si se presentan durante el sueño estas tienden a evolucionar a crisis generalizadas tónico clónicas (Cadilhac y Passouant, 1964).

En estudios recientes se ha descrito que las crisis parciales suelen presentarse más frecuentemente durante los periodos de sueño ligero (Minecan y cols., 2002)

#### **B) Crisis generalizadas.**

Las crisis generalizadas tónico clónicas, son crisis que se presentan en diferentes periodos

del sueño y la vigilia, por ejemplo llegan a presentarse al momento del despertar, durante la vigilia, durante el sueño o ser aleatorias. Sin embargo estas crisis en su mayoría predominan durante el periodo de sueño ligero y son suprimidas durante la fase de sueño MOR (Passouant y cols., 1965; Passouant, 1982; Cadilhac, 1982 ).

En relación a las crisis generalizadas, Malow y colaboradores realizaron estudios de sueño en 21 sujetos con epilepsia del lóbulo temporal refractaria. Los estudios los realizaron durante 24 horas seguidas bajo dosis medicamentosa de antiepilépticos. Los resultados que obtuvieron fueron, que las descargas interictales se presentaban con mayor frecuencia durante el SOL específicamente en la fase III y IV y menos frecuente en el sueño MOR (Malow y cols., 1998).

#### C) Crisis tónicas y crisis clónicas.

Estudios con pacientes jóvenes encontraron que las crisis que tienen su mayor incidencia durante el sueño son las crisis tónicas, estas crisis se presentan principalmente en la fase II y III del SOL y hasta ahora no se han encontrado en la fase de sueño MOR, estas crisis son muy comunes en la infancia (Gastaut y cols., 1963; Feria y cols., 1989).

Las crisis clónicas ocurren durante el SOL y no aparecen en el sueño MOR. En el SOL aparecen descargas generalizadas bilaterales y sincrónicas de poliespiga y en ocasiones estas crisis evolucionan a crisis clónicas generalizadas. Por tanto durante el SOL ésta actividad es facilitada y durante el sueño MOR desaparece (Gastaut, 1968; Feria y cols., 1989).

#### D) Crisis de ausencia.

Las crisis de ausencia o poliespiga onda de 3 Hz, se presentan en descargas muy breves durante el sueño MOR y aunque éstas descargas son facilitadas durante el sueño a medida que va progresando éste, las descargas se van fragmentando y se reduce la duración (Feria y cols., 1989).

Por otro lado, la privación de sueño es uno de los métodos que se utilizan en la clínica para el diagnóstico de la epilepsia, ya que se ha visto que cuando el paciente se somete a un periodo corto de privación de sueño éste invariablemente presentará una crisis. Existen otras técnicas que se emplean para favorecer la presencia de actividad epiléptica estos pueden ser hiperventilación, estímulos sonoros y estímulos visuales intermitentes (Arné y cols., 1982).

### 3.2 En Animales Experimentales.

#### 3.2.1 Efecto de crisis epilépticas sobre el sueño.

Se han utilizado modelos de epilepsia del lóbulo temporal para estudiar la relación de la epilepsia y el sueño. Por ejemplo, la *ouabaina*, la cual inhibe el transporte de sodio y potasio celular, inyectada en la región septal del gato induce crisis generalizadas por un periodo de 1 a 18 horas, con una latencia de 6 a 16 minutos, tiempo en que el sueño MOR desaparece y aumenta la vigilia; al detenerse las crisis aparece un aumento gradual del MOR sin llegar a presentar rebote (Baldy-Moulinier, 1982). En otro trabajo donde se utilizaron gatos a los cuales se les indujo *kindling* eléctrico amigdalino durante el periodo de luz y a los que se registraron durante 23 horas, se encontró que con un *kindling* ya establecido (estadio V), aumenta la vigilia y disminuye el tiempo total del sueño y durante el periodo de oscuridad, se reportó la disminución de la vigilia y el aumento del tiempo total del sueño. También se encontró que mientras se continúa con el *kindling*, las fases de sueño disminuyen, pero en el momento en que suspenden el estímulo eléctrico las fases de sueño incrementan. En este trabajo Calvo y colaboradores concluyeron que la alteración del sueño no se atribuye exclusivamente al desarrollo del *kindling* y que el sueño es capaz de adaptarse al efecto de las crisis focales y generalizadas (Calvo y Fernández-Guardiola, 1994).

Utilizando ácido kaínico para inducir crisis del lóbulo temporal en gatos, Cepeda y colaboradores encontraron que el estatus límbico interrumpió el sueño de dos hasta tres días después de la administración del ácido kaínico, observando una disminución significativa del SOL y la supresión del sueño MOR, en contraste la vigilia incrementó de 38% a 75%. Interesantemente después de 36 - 48 horas de la privación del sueño MOR, producido por el estatus epiléptico, no hubo un efecto de rebote (Cepeda y cols., 1986).

En un trabajo con ratas a las que se les indujo una sola crisis generalizada o cinco crisis generalizadas consecutivas, durante diferentes días, mediante el *kindling* amigdalino, se reportó que con una sola crisis inducida durante la vigilia, el sueño del animal se ve modificado en las primeras 24 horas, observándose aumento del sueño MOR y del SOL, y disminución de la vigilia. Por otro lado, con la inducción de varias crisis, el sueño MOR disminuyó significativamente, mientras que el SOL aumentó, este incremento duró varios días a diferencia del efecto producido por una sola

crisis. Los autores concluyeron que la inducción de una o varias crisis causan alteraciones en la arquitectura del sueño y vigilia, ya sea de corta o larga duración, respectivamente (Raol y Meti, 1998).

### 3.2.2 El papel del sueño sobre las crisis epilépticas.

Después de la aplicación sistémica de penicilina en gatos, se ha observado que la actividad epiléptica predomina durante el SOL y declina o desaparece durante el sueño MOR (Shouse y cols., 2000). Esta inhibición del sueño MOR sobre la actividad epiléptica a sido de mucho interés dentro de la investigación, en un trabajo en donde se facilitó la presencia del sueño MOR por medio de la aplicación de carbacol en la formación reticular pontina en ratas con *kindling* amigdalino, se encontró un incremento en el umbral del estímulo requerido para inducir las postdescargas y con el incremento del sueño MOR se observó un decremento de crisis corticales (Kumar y Raju, 2001). En otros trabajos se ha demostrado que al inducir *kindling* amigdalino en gatos durante el sueño MOR, éste se ve retardado, las postdescargas son más cortas y la propagación de la postdescarga a la amígdala contralateral y a la corteza sensoriomotora se retrasa importantemente. A partir de estos resultados, se concluyó que el sueño MOR presenta una influencia inhibitoria sobre el desarrollo del *kindling* amigdalino, ejerciendo este efecto principalmente en los estadios tempranos de la epileptogénesis (Calvo y cols., 1982; Calvo,1991).

## CAPÍTULO 4.

### DESARROLLO EXPERIMENTAL.

#### 4.1 Planteamiento del Problema

Actualmente se sabe que las crisis epilépticas generan un deterioro en la organización y la cantidad de sueño en humanos, primero por el efecto agudo de una crisis que inicia durante el sueño, el cual es interrumpido, y segundo, por el efecto crónico de la epilepsia, provocando una desorganización temporal de las fases de sueño y vigilia. Adicionalmente se ha descrito que los cambios que sufre el sueño dependen del tipo de crisis o epilepsia que esté presente, por ejemplo, la epilepsia del lóbulo temporal, la cual fue inicialmente clasificada como epilepsia del sueño, produce una fragmentación y un decremento en la organización temporal del sueño en pacientes

con ELT (Crespel y cols., 2000). Actualmente es posible llevar a cabo modelos experimentales con animales en donde se facilita el estudio de la epilepsia y los efectos que tiene en el organismo. Si bien ya se han realizado diversos estudios experimentales de sueño y epilepsia en donde reportan el deterioro del sueño, principalmente del sueño MOR, hasta ahora no se ha reportado los cambios que suceden en la organización temporal del sueño y la vigilia en más de 24 horas de registro con ratas. El objetivo de la presente investigación es estudiar la interacción entre la epilepsia y el sueño en registros con una duración de 36 horas. Para ello, se utilizó un modelo experimental de epilepsia en ratas que es equiparable a la epilepsia del lóbulo temporal en humanos.

#### **4.2 Objetivo General.**

Evaluar los cambios producidos por la actividad epiléptica inducida por la aplicación tópica de penicilina (50 y 100 U. I.) sobre la organización temporal del sueño a partir de los registros poligráficos de 36 horas continuas en rata.

#### **4.3 Objetivos Específicos.**

1. Con el fin de determinar si la epilepsia modifica la instalación y mantenimiento de las fases de vigilia y sueño, se cuantificará, después de la aplicación de la penicilina, la latencia promedio de la instalación de la primera fase del SOL y sueño MOR, el número de episodios, la duración media y el porcentaje del tiempo total de las fases de V, SOL y sueño MOR.

2. Para demostrar si las fases presentan cambios en la organización por cada hora desde que se induce la epilepsia hasta concluir el registro, además de demostrar si los cambios que presenta el sueño son de corta duración, se cuantificará la acumulación por hora de la duración en minutos de las fases de V, SOL y sueño MOR durante las 36 horas de registro.

3. Para demostrar si las fases de sueño presentan cambios en su organización temporal dependiendo de los periodos de luz y de oscuridad, se cuantificará el porcentaje del tiempo total de las fases de V, SOL y sueño MOR por los periodos de luz y oscuridad.

#### 4.4 Hipótesis.

Si la inducción de la epileptogénesis y las crisis epilépticas generadas en la amígdala del lóbulo temporal producen alteraciones en la organización del sueño, entonces la organización temporal de las fases de la V y el sueño presentarán cambios en la latencia, la duración, el número de episodios y porcentaje del tiempo total de cada fase.

#### 4.5 Material y Métodos.

##### Sujetos.

Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa *wistar* de 280 a 350 g de peso, las cuales se colocaron en cajas individuales con temperatura ambiente de 18 a 21 °C y con libre acceso al agua y alimento. El ciclo luz / oscuridad de los animales fue de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, el periodo de luz inició a las 8:00 de la mañana y concluyó a las 8:00 de la noche, para esto se utilizó un reloj de programación manual. Todos los animales fueron proporcionados por el bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” y fueron utilizados de acuerdo a las normas establecidas por el comité de ética de dicho Instituto para el uso y cuidado de animales de experimentación.

##### Material.

Se utilizaron electrodos de acero inoxidable en forma de clavo, electrodos bipolares de acero inoxidable de 0.025 mm de diámetro, cánulas de 0.21 mm de diámetro, cera de hueso, acrílico dental (Nic-Tone) y conectores para soldar los electrodos y fijarlos al cráneo.

Para la administración local de la penicilina se utilizó un catéter de plástico unido a un microinyector de 0.20 mm de diámetro y una Jeringa *Hamilton* de 2.0 µl.

##### Sustancias químicas:

Anestésico: Hidrocloruro de ketamina

Analgésico y relajante muscular: Hidrocloruro de xilazina y lidocaína.

Antisépticos: Alcohol al 96 %, agua oxigenada, isodine, benzal, sulfatiazol y sulfanilamida.

Proconvulsivante: Penicilina G sódica de 1.000.000 unidades.

Diluyente: Solución Salina al 0.9 %.

Aparatos.

Se utilizó un estereotáxico con cuatro torres (David Kopf ), un polígrafo Grass Modelo 7PCMBA con amplificadores 7P511 y 7P511J para registro de la actividad eléctrica cerebral, equipo de cómputo para análisis de datos, criostato MICROM y una fotoamplificadora para la realización de la técnica de procedimiento rápido para la verificación histológica de los sitios de registro e inyección (Guzmán-Flores y cols., 1958).

#### **4.6 Procedimiento.**

a) Procedimiento quirúrgico para la colocación de electrodos.

Las cirugías se realizaron en condiciones de asepsia (Vaquero, 1993). Los animales se anestesiaron vía intramuscular con 100 mg / k de ketamina y 2.0 mg / k de xilacina. Para registro EEG de sueño se colocaron electrodos en forma de clavo de aproximadamente 4.0 mm de largo en cortezas prefrontal derecha e izquierda, ubicandolos 2.0 mm anterior al bregma y 2.0 mm lateral a la línea media. Posteriormente, siguiendo coordenadas estereotáxicas (Paxinos y Watson, 1998), se colocaron electrodos bipolares de alambre de acero inoxidable aislado y estéril, en el hipocampo derecho (Bregma: AP -3.6 mm, lateral 2.0 mm y altura 3.5 mm) y en la amígdala del lóbulo temporal izquierdo (Bregma: AP -2.8 mm, lateral 4.2 y altura 8.0 mm). El electrodo de la amígdala estaba unido a una cánula de inyección, la cual sirvió para la administración de la penicilina.

Para registro de actividad muscular se insertaron dos alambres de acero inoxidable estériles en forma de gancho en el músculo del cuello a la altura de la nuca. Finalmente, se colocaron tres tornillos en el cráneo a nivel frontal, parietal y occipital, los cuales sirvieron como referencia neutra (tierra). Para realizar la inserción de los electrodos, los animales se colocaron en el estereotáxico, se realizó una incisión de 2 cm aproximadamente en la parte superior de la cabeza, iniciando de la parte anterior descubriendo bregma, hasta la parte posterior descubriendo Lambda. Se alineó el cráneo y se realizaron los orificios necesarios para implantar los electrodos en los sitios antes mencionados. Los electrodos se soldaron a un conector macho de diez puntas, el cual se fijó al cráneo con acrílico dental. Al finalizar la cirugía cada animal se colocó en una caja de plástico transparente (28 X 18 X 16 cm) con una cama de aserrín y con libre acceso a agua y alimento. Antes de iniciar los experimentos los animales tuvieron ocho días de recuperación por

la cirugía.

b) Registros poligráficos y aplicación de las sustancias.

Antes de iniciar los experimentos durante 3 días consecutivos todos los animales se habituaron a las condiciones de experimentación. Para la obtención de los registros se utilizó un polígrafo Grass en donde se registró la actividad eléctrica cerebral de la corteza prefrontal, el hipocampo, la amígdala y la actividad muscular.

c) Grupo Control con solución salina.

Se realizaron registros poligráficos en condiciones de control durante dos días continuos, el registro inicio a las 9:00 horas (día 1), después se les aplicó 1.0 µl de solución salina en la amígdala del lóbulo temporal, para esto se utilizó un catéter de plástico unido a un microinyector de 0.20 mm de diámetro y una Jeringa *Hamilton* de 2.0 µl. Se realizó la microinyección empujando manualmente el émbolo, al finalizar la microinyección se mantuvo el inyector dentro de la cánula durante un minuto, después se extrajo el inyector y nuevamente se empujó el embolo para verificar que la microinyección haya sido aplicada, dicha manipulación se llevó a cabo entre las 9:30 y 10:00 horas. El registro concluyó a las 21 horas del día 2 (n = 10). (Esquema 1).

d) Grupo Experimental.

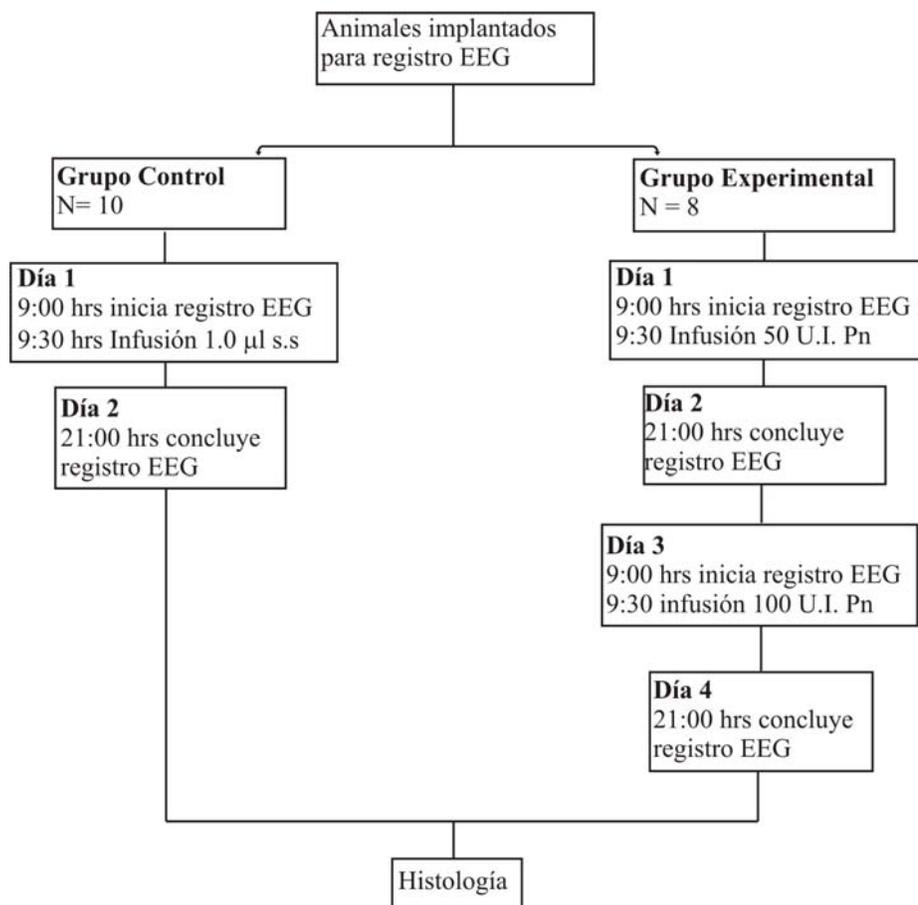
Dosis de 50 U.I. de penicilina.

Se registró durante dos días continuos, el registro inició a las 9:00 horas (día 1), después de 30 minutos de registro entre las 9:30 y 10:00 horas, se aplicó en la amígdala del lóbulo temporal 50 U. I. de penicilina diluida en 1.0 µl de solución salina, esta microinyección se realizó repitiendo la manipulación que se llevó a cabo con el grupo control. Este registro concluyó hasta las 21:00 horas del día 2 (n = 8). (Esquema 1).

Dosis de 100 U.I. de penicilina.

Una vez finalizado el registro de 36 horas con la aplicación de 50 U. I. de penicilina, al día siguiente (día 3) se inició el registro para la aplicación de 100 U. I. de penicilina, a las 9:00 horas y después de 30 minutos de registro, se aplicó en la amígdala del lóbulo temporal 100 U.I. de penicilina diluida en 1.0 µl de solución salina, esta microinyección se aplicó del mismo modo que como fue aplicada la de 50 U.I. Este registro concluyó hasta las 21:00 horas del día 4 (n = 8).

(Esquema 1). Durante la realización de los registros todos los animales se mantuvieron con libre acceso al agua y alimento.



**Esquema 1.** Se presenta el procedimiento experimental indicando el tiempo de inicio y término de los registros por cada grupo. Abreviaciones, µl = microlitro, s.s. = solución salina, Pn = penicilina.

e) Verificación de los sitios de registro e inyección.

Al finalizar las series experimentales los animales fueron sacrificados con una sobre dosis de Pentobarbital Sódico, se perfundieron con solución salina al 0.9% y paraformaldehído al 10%, insertando una aguja en el ventrículo izquierdo y haciendo un corte en la aurícula derecha del corazón. Se extrajeron los cerebros y se cortaron en un criostato a menos 14°C de temperatura, se obtuvieron rebanadas coronales de 60 micras, una vez cortado el cerebro se realizó la técnica de procedimiento rápido (Guzmán y cols., 1958). La técnica consistió en colocar en un portaobjetos

las rebanadas, las cuales funcionaron como el negativo de una fotografía, se acomodaron en una ampliadora fotográfica para proyectar la imagen a una hoja de papel fotográfico. Finalmente, se revelaron y se obtuvieron impresiones fotográficas en blanco y negro de los cortes coronales donde se ubicaron los sitios de registro y de aplicación de la penicilina de cada animal.

f) Análisis de los registros EEG.

Para el análisis de las fases de V y sueño, se ubicaron visualmente las fases de V, SOL y sueño MOR, utilizando el criterio de clasificación de sueño de Datta y colaboradores (2000). Las áreas que se tomaron en cuenta para ubicar a las fases, fueron corteza prefrontal (Cpf), hipocampo derecho (Hip-D) y electromiograma (EMG). El registro de la amígdala izquierda (Am-I) nos permitió analizar el inicio de la actividad epiléptica. Todos los datos obtenidos se capturaron en una computadora para el análisis estadístico.

g) Análisis estadístico de los datos.

Para el análisis cuantitativo de las fases de V y sueño se consideró la latencia, que es el tiempo que tarda en iniciar el primer episodio de SOL y de sueño MOR después de la aplicación de la penicilina; número de episodios, que es el número de veces que se presenta un episodio por cada fase; la duración media, el porcentaje del tiempo total y la acumulación por hora de cada fase. Es decir que para obtener el tiempo acumulado de cada fase, se sumó el tiempo de duración de la primer con el tiempo de la segunda y para la tercer hora se sumó el tiempo acumulado de la segunda hora más el tiempo de duración de la tercer hora y así sucesivamente hasta obtener el tiempo acumulado de las 36 horas. También se cuantificó el porcentaje del tiempo total de cada fase por los periodos de luz y oscuridad.

Cada variable se calculó a través de un programa de computo *Win sleep, RSW V2.99* que fue diseñado, en un principio, para la valoración del sueño en gatos pero que también se puede utilizar en ratas (Calvo, 1991). Este programa cuantifica por fase, la latencia, el número de episodios, la duración media, el porcentaje del tiempo total de cada fase, entre otras variables. Para todo el análisis se consideraron 36 horas de registro.

El análisis estadístico que se utilizó para la comparación de todas las variables obtenidas de los grupos control y experimental, fue la prueba no paramétrica para muestras independientes *U de Man-Witney* y para comparar la dosis de 50 contra la de 100 U. I. de penicilina, fue la prueba

no paramétrica para muestras relacionadas *T de Wilcoxon* (Siegel, 1985; Wayne, 2004). Todos los datos se analizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 11. El grado de significancia para este análisis fue de  $p < 0.05$ .

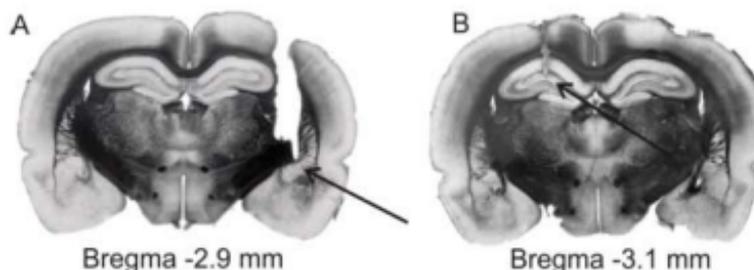
## CAPÍTULO 5.

### RESULTADOS.

La implantación de los electrodos permitió recoger las señales EEG y EMG para la valoración del sueño durante 36 horas. Asimismo, la colocación de las cánulas guía en la amígdala, permitió aplicar las microinyecciones de penicilina en esta estructura e inducir las espigas y crisis epilépticas.

#### 5.1 Ubicación del sitio de inyección y de registro.

El análisis histológico mostró que el sitio de inyección de la amígdala se situó en el núcleo central, central lateral y central medial y el sitio de registro del Hipocampo se situó en la región CA1 del hipocampo y giro dentado. De este modo se comprobó que el sitio de inyección y registro fue el correcto para todos los animales incluidos en el análisis de los resultados (Figura 5).



**Figura 5.** Cortes coronales que muestran la localización de los electrodos y la cánula guía. **A.** Se indica por medio de una flecha el sitio donde se aplicó la penicilina. Nótese que la cánula se colocó un milímetro arriba de la amígdala para evitar lesión en esta área. **B.** Se muestra por medio de una flecha el sitio donde se registró la actividad eléctrica del hipocampo. Ambos cortes se ubicaron utilizando el atlas estereotáxico (Paxinos y Watson, 1998).

## 5.2 Descripción Cualitativa de los Registros EEG

5.2.1 Efecto de la aplicación tópica de penicilina (dosis de 50 y 100 U. I.) en el núcleo central de la amígdala sobre la actividad eléctrica cerebral y la conducta.

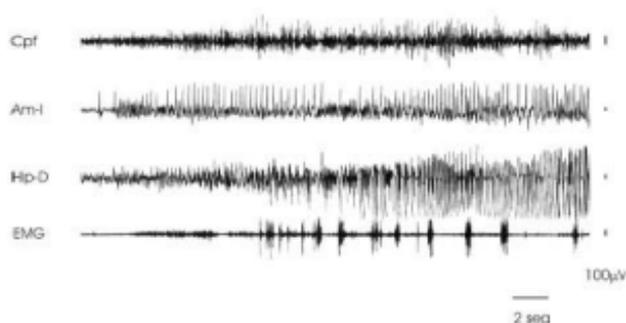
### Dosis de 50 U. I.

La aplicación de 50 U. I. de penicilina en el núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal, indujo espigas de baja amplitud entre 3 y 4 minutos después de ser aplicada. La propagación de las espigas a la corteza prefrontal fue simultánea a la instalación de éstas en la amígdala. Seis minutos después, la actividad epiléptica se estabilizó, observándose espigas de mayor amplitud y frecuencia.

Posteriormente, se presentaron crisis focales con una duración entre 10 y 15 segundos, que fueron seguidas de crisis generalizadas con una duración aproximada de 30 a 60 segundos (Figuras 6 y 7). Tres horas después de la aplicación de la penicilina, las espigas disminuyeron progresivamente en amplitud y frecuencia. La duración del efecto de la penicilina fue de 5 a 6 horas. Las crisis focales y generalizadas predominaron durante la primer hora de haber aplicado la penicilina.



**Figura 6** Trazo poligráfico que muestra una crisis focal provocada por la dosis de 50 U. I. de penicilina. Nótese la gran amplitud de las espigas amigdalinas que preceden a la crisis. Corteza prefrontal (Cpf), amígdala izquierda (Am-I), hipocampo derecho (Hip-D), electromiograma (EMG).

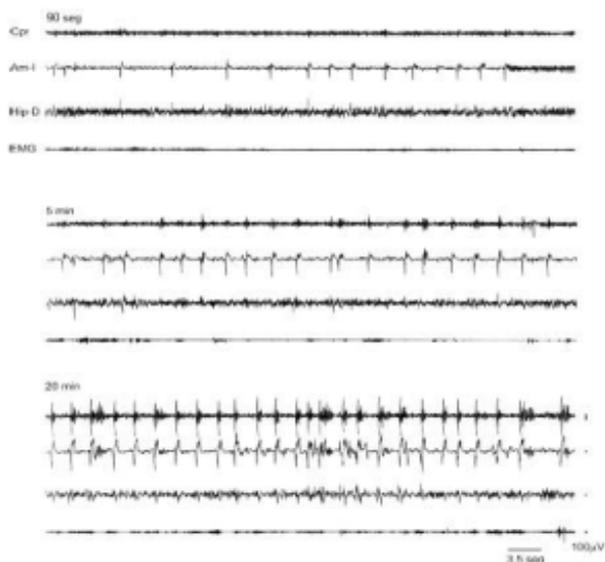


**Figura 7.** Trazo poligráfico que muestra una crisis generalizada tónico clónica provocada por la aplicación tópica de 50 U. I. de penicilina. Nótese que la crisis se inicia en la amígdala (Am-I), de donde se propaga a las demás regiones registradas. Nótese también que la actividad epiléptica se acompaña de contracciones musculares clónicas registradas en el EMG. Abreviaturas como en la figura 6.

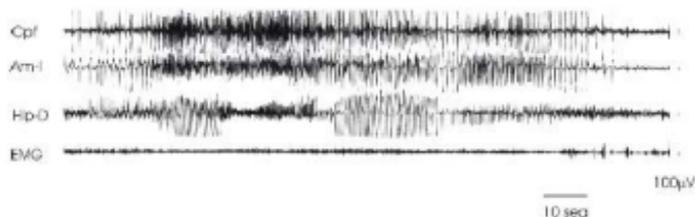
Las respuestas conductuales que se presentaron al inicio y durante la actividad epiléptica por la dosis de 50 U. I. de penicilina fueron: guiños ipsilaterales, marcha en círculos, incremento del olfato y sacudidas de "perro mojado" (Fytikänen y cols., 2006). Conforme se propagó la actividad epiléptica, ocurrieron progresivamente los estadios I, II y en ocasiones estadio III (Racine, 1972).

#### Dosis de 100 U. I.

Con esta dosis, la instalación de espigas y crisis epilépticas fue más rápida que con la dosis de 50 U. I. Entre uno y dos minutos después de haber aplicado la penicilina, ocurrieron espigas de baja amplitud y frecuencia en la amígdala y corteza. Las espigas alcanzaron su máxima amplitud y frecuencia entre los 10 y 15 minutos después de haber iniciado (Figura 8). Las crisis tuvieron una duración de 1 a 3 minutos (Figura 9) y ocurrieron a intervalos aproximados de 15 minutos. Después de diez horas de iniciada la actividad epiléptica, la amplitud y la frecuencia intrínseca de las crisis disminuyeron progresivamente, posteriormente la actividad epiléptica dejó de ocurrir primero durante la fase de V, esto es entre las 15 y 16 horas posteriores a la aplicación de la penicilina y entre 24 y 28 horas en la fase de SOL.

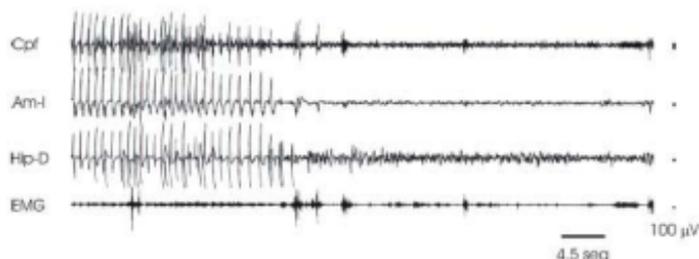


**Figura 8.** Trazo poligráfico que muestra el inicio y propagación de las espigas en diferentes tiempos, 90 segundos, 5 y 20 minutos después de la aplicación de la penicilina (100 U. I.). Nótese el aumento de la amplitud y frecuencia de las espigas en la corteza (Cpf) y en la amígdala (Am-I) a los 20 minutos de la aplicación de la penicilina. Abreviaturas como en la figura 6.



**Figura 9.** Trazo poligráfico que muestra una crisis generalizada en un animal que recibió 100 U. I. de penicilina. Nótese la propagación de la actividad epiléptica y el aumento de voltaje y frecuencia de las espigas, en todas las estructuras registradas. Abreviaturas como en la figura 6.

En estos animales se observaron los estadios conductuales I, II, III IV y V (Racine, 1972), así como la conducta denominada sacudidas de "perro mojado". Al final de la crisis, los animales permanecieron inmóviles y con la disminución de la amplitud EEG que caracteriza a la depresión postictal (Figura 10).



**Figura 10.** Trazo poligráfico que muestra el final de una crisis generalizada y el inicio de la depresión postictal en un animal que recibió 100 U. I. de penicilina. Nótese la disminución de la actividad epiléptica en todas las estructuras registradas. Abreviaturas como en la figura 6.

### 5.2.2 Efecto de la actividad epiléptica sobre la organización temporal del sueño.

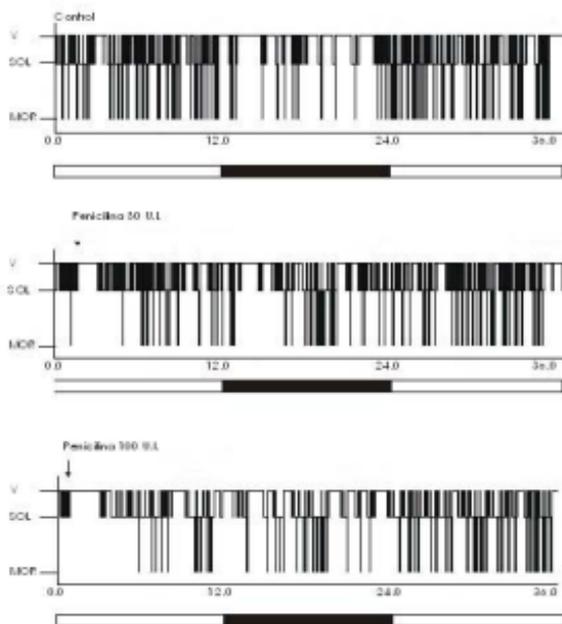
#### Dosis de 50 U. I.

La aplicación de 50 U. I. de penicilina provocó periodos prolongados de V. Este fenómeno se observó durante el periodo de luz, cuando los animales normalmente tienen su periodo de dormir. Durante el SOL, se observó la ocurrencia de espigas o crisis focales que frecuentemente interrumpieron a esta fase del sueño. Durante el periodo de obscuridad, cuando estos animales normalmente están despiertos, se observó la ocurrencia de periodos prolongados de SOL, que predominaron sobre los estados de V y de sueño MOR (Figura 10).

#### Dosis de 100 U. I.

La aplicación de 100 U. I. de penicilina provocó un mayor deterioro de la organización del sueño. La presencia ininterrumpida de espigas, crisis focales y crisis generalizadas, retrasó notablemente la instalación del SOL. Esta fase del sueño comenzó a ocurrir cuando ocasionalmente disminuía la actividad epiléptica y frecuentemente se interrumpió por la instalación de crisis

generalizadas. El sueño MOR también fue interrumpido frecuentemente por periodos breves de V, donde ocurrían crisis focales. Dos de los animales a pesar de que tuvieron periodos prolongados de V por la ocurrencia sostenida de crisis epilépticas, también se mantuvieron despiertos durante el periodo de obscuridad. En cambio, el resto de los animales mostraron el aumento del SOL durante la obscuridad (Figura 11).



**Figura 11.** Hipnogramas representativos de la organización temporal de los estados de V, SOL y del sueño MOR, en cada situación experimental (control, dosis de 50 y 100 U. I.). La barra inferior indica el periodo de luz (barra blanca) y el periodo de obscuridad (barra negra) durante las 36 horas de registro poligráfico. Nótese los periodos prolongados de V que siguen a la aplicación de la penicilina

### 5.2.3 Ocurrencia de las espigas y las crisis, de acuerdo a las fases de vigilia y sueño.

#### Dosis de 50 U. I.

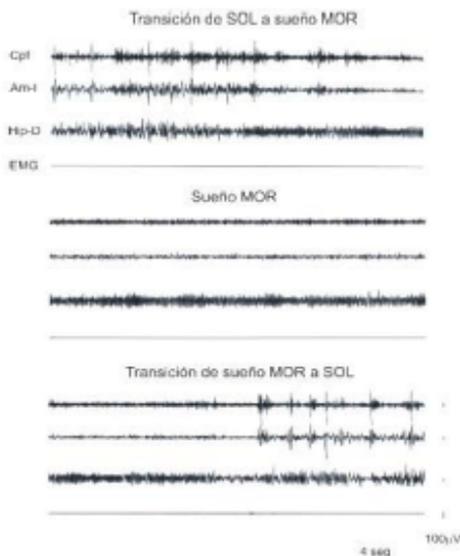
Durante la fase de V se observó la presencia de espigas, crisis focales y ocasionalmente crisis generalizadas (Figura 6 y 7). Durante el SOL se observó la facilitación de la frecuencia de las espigas y presencia de crisis focales. Durante el sueño MOR no se observaron espigas, ni crisis.

#### Dosis de 100 U. I.

Durante la fase de V se observaron espigas de mayor amplitud y frecuencia, así como crisis generalizadas tónico clónicas (Figura 9). Durante la fase de SOL se observó la ocurrencia de espigas (Figura 12) y de crisis focales que provocaron la interrupción de la fase, estas crisis EEG se acompañaron de movimientos verticales de cabeza y movimientos rápidos de los vibris (bigotes). Durante el sueño MOR no ocurrió ningún tipo de actividad epiléptica (Figura 13).



Figura 12. Trazo poligráfico que muestra la presencia de espigas durante la fase de SOL en un animal que recibió 100 U. I. de penicilina. Nótese la ocurrencia de espigas durante los husos del sueño que caracterizan al SOL. Abreviaturas como en la Figura 6.



**Figura 13.** Trazo poligráfico que muestra la ausencia de espigas durante la fase de sueño MOR en un animal que recibió 100 U. I. de penicilina. Nótese la ocurrencia de espigas únicamente durante los husos del sueño que caracterizan al SOL. Abreviaturas como en la figura 6.

### 5.3 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS REGISTROS EEG

#### 5.3.1 Número de registros obtenidos por cada grupo.

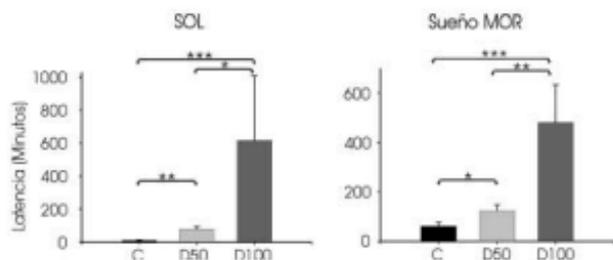
Es importante mencionar que de los 24 animales implantados, seis se excluyeron del estudio ya que tres presentaron problemas del implante de los electrodos y los otros tres desarrollaron estatus epiléptico al aplicarles la penicilina. Por lo tanto del grupo control ( $n=10$ ) se obtuvieron un total de 10 registros EEG y del grupo experimental ( $n=8$ ), se obtuvieron un total de 16 registros EEG, ocho para la dosis de 50 U. I. y ocho para la dosis de 100 U. I. de penicilina.

Por lo tanto, a partir de los registros poligráficos obtenidos se analizaron los datos para calcular la latencia, el número de episodios, la duración media, el porcentaje y la duración de la acumulación por hora de las fases de V, SOL y sueño MOR. Además, se realizó el análisis del

porcentaje total de cada fase de vigilia y sueño para comparar los periodos de luz y oscuridad. Para llevar a cabo el análisis de estas variables se comparó al grupo control contra el experimental por cada dosis y también se analizaron las diferencias entre las dosis de 50 y 100 U. I. de penicilina.

### 5.3.2 Latencia para la instalación del primer episodio de SOL y del sueño MOR.

Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas en la latencia promedio de instalación del primer episodio de SOL, al aplicar la dosis de 50 U. I. ( $Z = 3.2$ ,  $p < 0.01$ ) y la dosis de 100 U. I. ( $Z = 3.5$ ,  $p < 0.001$ ) de penicilina en comparación con la latencia promedio de instalación del primer episodio de SOL de la situación control. Los resultados también muestran diferencias significativas en la latencia promedio de instalación del primer episodio de SOL, al comparar las dosis de 50 U. I. y de 100 U. I. ( $Z = 2.2$ ,  $p < 0.02$ ) de penicilina. Para la fase de sueño MOR se obtuvieron diferencias significativas en la latencia promedio de instalación del primer episodio, al aplicar las dosis de 50 U.I. ( $Z = 1.9$ ,  $p < 0.05$ ) y 100 U. I. ( $Z = 3.3$ ,  $p < 0.001$ ) de penicilina en comparación con la latencia promedio de instalación del primer episodio de sueño MOR de la situación control. La latencia promedio de instalación del primer episodio de sueño MOR también tuvo diferencias significativas al comparar ambas dosis ( $Z = 2.5$ ,  $p < 0.01$ ) de penicilina. Los valores promedio más altos tanto para el SOL, como para el sueño MOR, fueron obtenidos con la dosis de 100 U.I. (Figura 14).

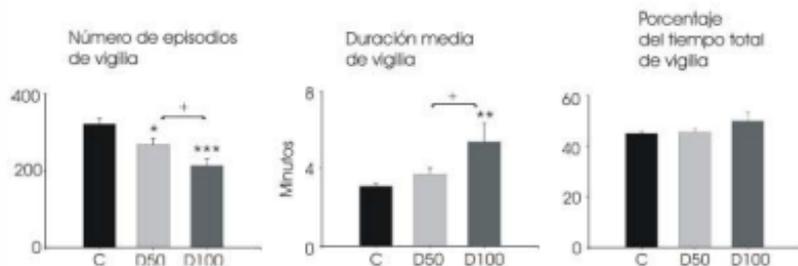


**Figura 14.** Histogramas que muestran los valores promedio de las latencias al SOL y al sueño MOR en las distintas situaciones experimentales (Control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar. C, control; D50, dosis de 50 U. I. de penicilina; D100, dosis de 100 U. I. de penicilina. SOL \*,  $p < 0.02$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ; MOR \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

5.3.3 Número de episodios, duración media y porcentaje del tiempo total de las fases de vigilia y sueño.

#### *Vigilia*

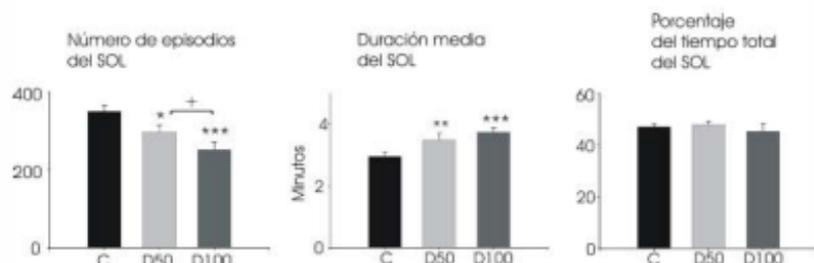
Con la dosis de 50 U. I. de penicilina el número de los episodios de V fue significativamente menor en comparación con el control ( $Z = 2.1, p < 0.03$ ). La dosis de 100 U. I. de penicilina también provocó la disminución significativa del número de episodios de V ( $Z = 3.1, p < 0.001$ ), con ésta dosis se alcanzaron los valores promedio más bajos. La duración media de la fase de V aumentó significativamente con la dosis de 100 U. I. ( $Z = 2.9, p < 0.002$ ). Por otra parte, los valores promedio del porcentaje de V no mostraron diferencias significativas con ambas dosis. En relación a la comparación entre ambas dosis, se encontraron diferencias significativas en el número de episodios ( $Z = 2.3, p < 0.01$ ) y la duración media ( $Z = 2.1, p < 0.03$ ) de las fases (Figura 15).



**Figura 15.** Histogramas que muestran los valores promedio del número de episodios, la duración media y el porcentaje del tiempo total de V en las distintas situaciones experimentales. Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). \*,  $p < 0.03$ ; \*\*,  $p < 0.002$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ , en comparación con el control. +,  $p < 0.03$ , comparando ambas dosis. Abreviaturas como en la figura 14.

### SOL

En comparación con la situación control, la aplicación de 50 U. I. de penicilina provocó la disminución significativa del número de episodios de la fase de SOL ( $Z = 1.9, p < 0.05$ ). La dosis de 100 U. I. también provocó la disminución significativa del número de episodios ( $Z = 3.1, p < 0.001$ ), con ésta dosis se obtuvieron los valores promedio más bajos. La duración media de ésta fase, aumentó significativamente con la dosis de 50 U.I. ( $Z = 2.0, p < 0.04$ ) y 100 U.I. ( $Z = 2.7, p < 0.004$ ). El porcentaje del SOL en el tiempo total de registro, no tuvo cambios significativos con ambas dosis. En cuanto a la comparación entre ambas dosis de penicilina únicamente se encontraron diferencias significativas en el número de episodios del SOL ( $Z = 2.2, p < 0.02$ ) (Figura 16).

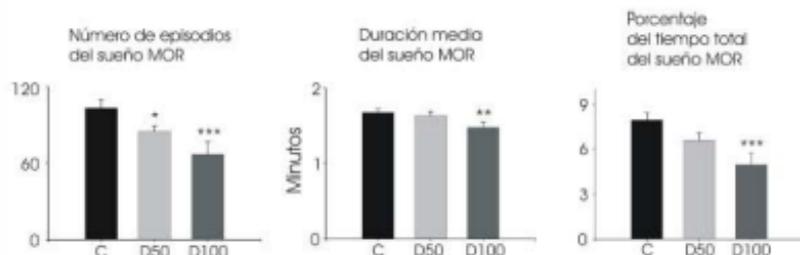


**Figura 16.** Histogramas que muestran los valores promedio del número de episodios, la duración media y el porcentaje del tiempo total del SOL en las distintas situaciones experimentales. Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.04$ ; \*\*\*,  $p < 0.004$ ; en comparación al control. +,  $p < 0.02$ , comparando ambas dosis. Abreviaturas como en la figura 14.

### Sueño MOR

Con la aplicación de 50 y 100 U. I. de penicilina, se provocó la disminución significativa del número de episodios de esta fase,  $Z = 2.0, p < 0.04$  y  $Z = 2.6, p < 0.006$  respectivamente. La dosis de 100 U. I. provocó la mayor disminución del número de fases de sueño MOR. La duración media de esta fase sólo mostró la disminución significativa con la dosis de 100 U. I. de penicilina en comparación con el control ( $Z = 2.1, p < 0.03$ ). Los valores promedio del porcentaje de la fase de

sueño MOR, disminuyeron con la dosis de 50 U. I. de penicilina, pero sus diferencias con la situación control no fueron significativas. Con la aplicación de 100 U. I. de penicilina, se provocó la disminución significativa del porcentaje de sueño MOR en comparación con la situación control ( $Z = 2.6$ ,  $p < 0.006$ ) (Figura 17).

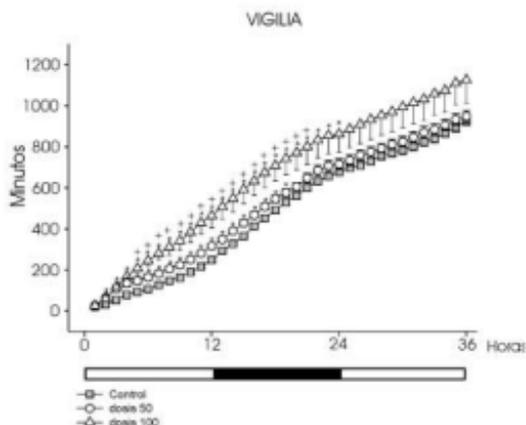


**Figura 17.** Histogramas que muestran los valores promedio del número de episodios, la duración media y el porcentaje del tiempo total del sueño MOR en las distintas situaciones experimentales. Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ , experimental,  $n = 8$ ). \*,  $p < 0.04$ ; \*\*,  $p < 0.03$ ; \*\*\*,  $p < 0.006$ . Abreviaturas como en la figura 14.

#### 5.3.4 Acumulación por hora de cada fase de vigilia y sueño.

##### *Vigilia.*

Los resultados muestran, que a diferencia del control, la aplicación de 50 U. I. de penicilina provocó el aumento significativo de la duración de la acumulación de la V desde la segunda hora hasta la hora 18. En las siguientes horas, la diferencia ya no fue significativa. Con la aplicación de 100 U. I., el incremento también fue significativo desde la segunda hora hasta la hora 23, a partir de esta hora, no se encontraron diferencias significativas con respecto a los valores control. En cuanto a la comparación entre la dosis de 50 y la de 100 U. I. se observó que la dosis de 100 U. I. provocó el aumento significativo a partir de la hora 5 hasta la hora 21 (Figura 18).

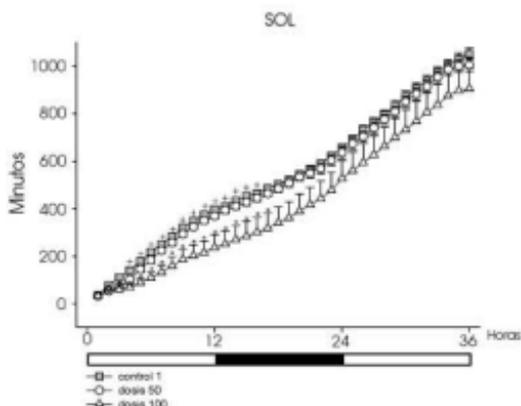


**Figura 18.** Acumulación por hora durante 36 horas de la fase de V. Cada punto representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). Los asteriscos indican los valores significativos de  $p < 0.05$  con la dosis de 50 U y de 100 U. I., en comparación a los obtenidos en la situación control. La cruz indica los valores significativos de  $p < 0.001$  entre la dosis de 50 y 100 U. I. Nótese que la duración de la acumulación es mayor desde el primer período de luz con la dosis de 100 U. I. La barra inferior indica los períodos de luz (blanco) y oscuridad (negro).

### SOL.

Se observó que con la aplicación de 50 U. I. de penicilina, la duración de la acumulación del SOL, disminuyó significativamente únicamente en la segunda y tercer hora del registro ~~polisomno~~ gráfico en comparación a los registros control. Con la aplicación de 100 U. I. de penicilina, se provocó una disminución significativa de la duración de la acumulación del SOL desde la segunda hora hasta la hora 16. A partir de la hora 17 esta fase del sueño no presenta diferencias significativas al compararse con la situación control. En cuanto a la comparación entre la dosis de 50 y 100 U. I.,

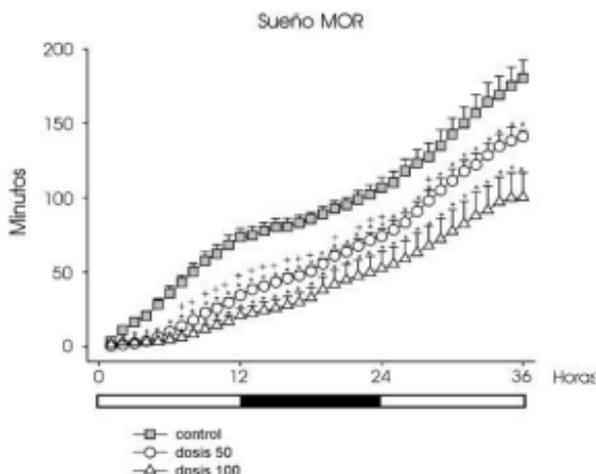
se observaron diferencias significativas a partir de la hora 4 hasta la hora 16 (Figura 19).



**Figura 19.** Acumulación por hora durante 36 horas de la fase de SOL. Cada punto representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). Los asteriscos indican los valores significativos obtenidos con la dosis de 50 U. I. ( $p < 0.05$ ) y 100 U. I. ( $p < 0.05$  y  $p < 0.001$ ) de penicilina en comparación a los obtenidos en las situación control. Se indica con una cruz las diferencias significativas obtenidas ( $P < 0.001$ ) entre la dosis de 50 y 100 U. I. de penicilina. Nótese que la duración de la acumulación es menor desde el primer período de luz con la dosis de 100 U. I. La barra inferior indica los períodos de luz (blanco) y oscuridad (negro).

#### *Sueño MOR.*

Con la aplicación de 50 y 100 U. I. de penicilina, la duración de la acumulación de la fase de sueño MOR disminuyó significativamente a partir de la segunda hora y hasta la hora 36 del registro poligráfico en comparación al grupo control. En cuanto a la comparación entre la dosis de 50 y 100 U. I., se observó diferencias significativas a partir de la hora 7 a la hora 18, después esta significancia fue variando observándose únicamente en la hora 19 y posteriormente de la hora 22 a la 24 (Figura 20).



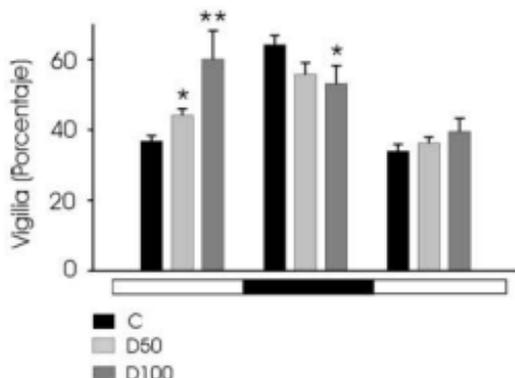
**Figura 20.** Acumulación por hora durante 36 horas de la fase de sueño MOR. Cada punto representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n=10$ ; experimental,  $n=8$ ). Los asteriscos indican los valores significativos de 50 U. I. ( $p < 0.05$  y  $p < 0.001$ ) y 100 U. I. ( $p < 0.01$  y  $p < 0.001$ ) de penicilina en comparación a los de la situación control. Se indica con una cruz las diferencias significativas obtenidas ( $p < 0.05$  y  $p < 0.001$ ) entre la dosis de 50 y 100 U. I. de penicilina. Nótese que la duración de la acumulación obtenida con ambas dosis es menor desde el primer periodo de luz. La barra inferior indica los periodos de luz (blanco) y oscuridad (negro).

**5.3.5 Análisis del porcentaje de las fases de vigilia y sueño de acuerdo a cada periodo de luz y oscuridad**

#### *Vigilia.*

En comparación con el control, las dosis de 50 y 100 U.I. de penicilina provocaron el aumento significativo del porcentaje de V en el primer periodo de luz ( $Z = 2.1$ ,  $p < 0.03$  y  $Z = 2.9$ ,  $p < 0.002$  respectivamente). En el periodo de oscuridad subsecuente, dicho porcentaje disminuyó significativamente sólo con la dosis de 100 U.I. ( $Z = 2.1$ ,  $p < 0.03$ ). En el segundo periodo de luz

no se obtuvieron diferencias significativas en comparación al control (Figura 21). Es de interés hacer notar, el aumento de V durante el periodo de luz, cuando normalmente duermen los animales y la disminución de ésta fase durante el periodo de oscuridad, cuando en condiciones normales los animales están despiertos.

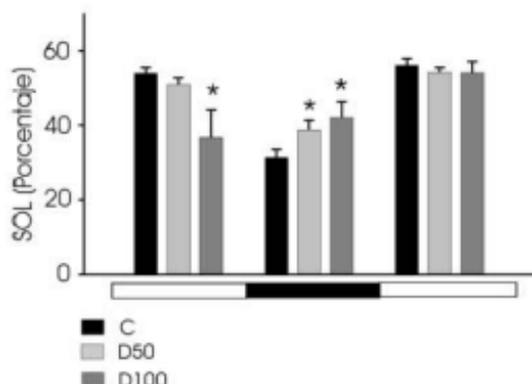


**Figura 21.** Histograma de los valores promedio del porcentaje de V en las diferentes situaciones experimentales, de acuerdo a los periodos de luz y oscuridad. Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). Nótese el aumento durante el primer periodo de luz y la disminución durante el periodo de oscuridad, con ambas dosis de penicilina, \*,  $p < 0.03$ ; \*\*,  $p < 0.002$  en comparación a los valores control. Las barras horizontales indican, los periodos de luz (blanco) y oscuridad (negro). Abreviaturas como en la figura 14.

### SOL.

Esta fase del sueño disminuyó significativamente con la dosis de 100 U.I. durante el primer periodo de luz ( $Z = 2.2$ ,  $p < 0.02$ ) y en el periodo de oscuridad subsecuente aumentó significativamente con la aplicación de 50 y 100 U.I. de penicilina ( $Z = 2.2$ ,  $p < 0.02$  y  $Z = 1.9$ ,  $p < 0.05$  respectivamente). En el segundo periodo de luz, no hubo diferencias significativas entre las diferentes situaciones experimentales (Figura 22). Es de interés notar que los cambios del porcentaje del SOL fueron en sentido opuesto a los cambios del porcentaje de V y que con la dosis de 100 U. I. de penicilina, durante el segundo periodo de luz, aumentó significativamente el porcentaje de ésta

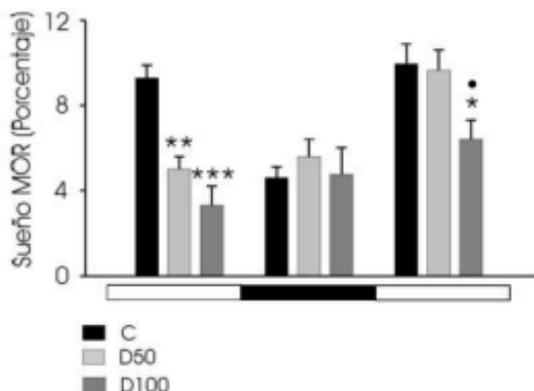
fase alcanzando los valores obtenidos en situaciones de control.



**Figura 22.** Histograma de los valores promedio del porcentaje del SOL en las diferentes situaciones experimentales de acuerdo a los periodos de luz y oscuridad. Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). Nótese que ambas dosis provocan el aumento del SOL durante el periodo de oscuridad, \*,  $p < 0.05$  en comparación al control. Las barras horizontales indican, los periodos de luz (blanco) y oscuridad (negro). Abreviaturas como en la figura 14.

#### *Sueño MOR.*

Esta fase de sueño disminuyó significativamente en el primer periodo de luz con la aplicación de 50 y 100 U.I. de penicilina ( $Z = 3.2$ ,  $p < 0.001$  y  $Z = 3.5$ ,  $p < 0.0001$  respectivamente). En el periodo de oscuridad subsecuente, no hubo diferencias significativas entre los valores promedio de las diferentes dosis de penicilina. En el segundo periodo de luz, con la dosis de 50 U. I. de penicilina, el porcentaje de sueño MOR alcanzó valores semejantes a los obtenidos en la situación control. Con la dosis de 100 U. I. el porcentaje de esta fase de sueño permaneció con valores significativamente más bajos que los valores control ( $Z = 2.2$ ,  $p < 0.02$ ). Es de interés mencionar que en el segundo periodo de luz hubo diferencias significativas entre la dosis de 50 y 100 U. I. de penicilina ( $Z = 1.9$ ,  $p < 0.05$ ) (Figura 23).



**Figura 23.** Histograma de los valores promedio del porcentaje del sueño MOR en las diferentes situaciones experimentales de acuerdo a los periodos de luz y oscuridad. Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar (control,  $n = 10$ ; experimental,  $n = 8$ ). Nótese la diferencia significativa en el segundo periodo de luz entre ambas dosis de penicilina\*,  $p < 0.02$ ; \*\*,  $p < 0.001$ ; \*\*\*,  $p < 0.0001$ , en comparación con el control. \*,  $p < 0.05$  comparando ambas dosis en el segundo periodo de luz. Las barras horizontales indican los periodos de luz (blanco) y oscuridad (negro). Abreviaturas como en la figura 14.

## **CAPÍTULO 6.**

### **DISCUSIÓN.**

Los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron que la epileptogénesis y las crisis epilépticas inducidas por la aplicación de penicilina G - Sódica en la amígdala del lóbulo temporal, inducen cambios en la cantidad y la organización temporal de las fases de V, SOL y sueño MOR. También se demostró, que el sueño MOR es la fase que presenta mayor deterioro, además de que su recuperación es más lenta en comparación a las fases de V y SOL.

#### **6.1 La aplicación de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal y su efecto en la actividad EEG.**

En el presente estudio se observó actividad interictal e ictal al aplicar las microinyecciones de 50 y 100 U. I. de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal, la latencia de inicio fue de 30 a 60 segundos después de la aplicación de la penicilina en ambas dosis. La propagación de la actividad epiléptica fue primero en áreas ipsilaterales y después hacia áreas contralaterales al sitio de la aplicación de la penicilina. Estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura, en donde se inducen descargas epilépticas por la aplicación tópica de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal en gatos (Martínez y cols., 2000 ; Gigli y Gotman, 1992; Fernández-Guardiola y cols., 1991 y 1995; Gloor y cols, 1977) y ratas (Martinez y cols., 2004; Asai y cols, 1995 ). En relación al efecto que produjo cada dosis, se observó que a mayor dosis, la duración de la actividad epileptiforme aumenta, además de que se facilita la presencia de crisis estadio IV y V. Se reportó un efecto similar al aplicar penicilina en corteza motora de rata, ya que se menciona que para producir crisis generalizadas, se requiere de dosis mayor a la que se utiliza para producir únicamente espigas interictales, además también se reporta la variación del tiempo de duración de la actividad epiléptica, que va en relación a la concentración de la dosis administrada (Collins, 1976). Cabe mencionar que el modelo que se utilizó en el presente estudio es útil para observar el proceso de la epileptogénesis, Fernández-Guardiola y colaboradores plantearon que no sólo es apropiado para la generación de un sitio excitable, sino también por la participación progresiva de áreas corticales y subcorticales que subyacen a la manifestación de múltiples conductas epilépticas (Fernández-Guardiola y cols., 1991). Es importante recordar que una de las explicaciones de la acción

farmacológica que tiene la penicilina en el cerebro es que bloquea la inhibición del complejo receptor GABAA, provocando el aumento de  $K^+$  extracelular y la disminución de  $Ca^{2+}$  extracelular, lo cual, lleva a la despolarización y el retardo de la hiperpolarización en las células (Fernández-Guardiola y cols., 1995).

### **6.2** La actividad epiléptica y su repercusión sobre la organización del sueño.

En relación al deterioro de las fases de sueño obtenido después de la aplicación de 50 y 100 U.I. de penicilina, se observó que el aumento de la actividad epiléptica manifestada por crisis generalizadas tónico clónicas facilita el aumento de la fase de V y la disminución de la fase de SOL y sueño MOR éste resultado se observó en los hipnogramas mostrados en la figura 8. Este resultado concuerda con lo que se ha observado en pacientes epilépticos que presentan frecuentes crisis motoras durante el sueño, los cuales al recibir tratamiento farmacológico, manifiestan una mejoría en las fases de SOL y sueño MOR. Tachibana y colaboradores concluyeron que muchas de las alteraciones del sueño son producidas principalmente por la excitación de áreas motoras que interrumpen las fases de sueño (Tachibana y cols., 1996). Una de las crisis que producen el despertar son las crisis parciales simples, que se presentan durante el sueño y que evolucionan en crisis complejas generalizadas (Cadilhac y Passouant, 1964). Es importante mencionar que aunque la amígdala del lóbulo temporal no es una estructura motora, la propagación de la actividad epiléptica excita áreas corticales, subcorticales y de tallo cerebral que están implicadas en la actividad motora (Fernández-Guardiola y cols., 1995).

### **6.3** La ocurrencia de la actividad epiléptica de acuerdo a las fases de SOL y sueño MOR.

Si bien no se cuantificó la ocurrencia de las espigas epilépticas durante la fase de SOL, si pudimos observar que esta actividad epiléptica aumentó durante la fase de SOL (figura 12) manifestándose en crisis focales y crisis generalizadas. En relación ha esto se sabe que la fase SOL en interacción con la actividad epiléptica, provoca el aumento de la frecuencia de las espigas y de las crisis focales y generalizadas (Sammaritano y cols., 1991). En estudios donde se analiza la interacción del sueño y la epilepsia, se destaca el papel que tienen los diferentes patrones del sueño sobre la epilepsia, en un trabajo realizado en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, se

demonstró que las espigas y las crisis, son principalmente facilitadas por patrones excitadores del SOL, en este caso se menciona a la actividad delta y los complejos K, como eventos que contribuyen a la excitación, se puntualiza que estos eventos son generados por la interacción de redes tálamo corticales (Parrino y cols., 2000; Amzica y Steriade, 1998). En esta misma línea de investigación, se ha descrito que tanto los husos de sueño como las oscilaciones delta observadas en la corteza tienen una amplitud mucho mayor en el EEG que las oscilaciones rápidas observadas en vigilia y sueño MOR, dicha característica indicaría que las oscilaciones durante el sueño lento sincronizan una población mayor de neuronas (Nuñez y Amzica, 2004), por tanto se sugiere que este reclutamiento neuronal propio del sueño lento esté participando en la facilitación de la actividad epiléptica.

En relación al sueño MOR, en el presente estudio, se observó que durante ésta fase la actividad epiléptica no está presente (figura 13), lo que concuerda con lo planteado en trabajos previos en donde se menciona el papel inhibitorio del sueño MOR, este papel inhibitorio también se ha observado en pacientes que presentan epilepsias con crisis parciales, secundariamente generalizadas (Feria y cols., 1989; Passouant, 1975) y en modelos de epilepsia con animales (Cadilhac y cols., 1965; Frank, 1969; Calvo y cols., 1982; Calvo, 1991; Kumar y Raju, 2001). De acuerdo a lo planteado anteriormente, se ha sugerido que las ondas PGO además de participar en la instalación o mantenimiento del sueño MOR, también tienen un papel en la interrupción de la actividad epiléptica (Fernández-Guardiola y cols., 1971 y 1995). Otro estudio que demuestra la influencia que tiene el sueño MOR sobre la epilepsia fue el realizado por Calvo en donde aplicó kindling amigdalino en gatos durante la fase de V y durante la fase de sueño MOR y demostró que a los animales que se les aplicó el kindling en la fase de sueño MOR requirieron un mayor número de estímulos para producir crisis estadio “V” en comparación a los animales que fueron estimulados durante la fase de V (Calvo, 1991).

**6.4** La latencia, número de episodios, duración media y porcentaje del tiempo total de las fases de vigilia y sueño.

Por un lado, se observó el aumento de la latencia de la fase de SOL y sueño MOR y por otro el aumento en la duración de la fase de V. Este aumento en la latencia del SOL y sueño MOR

se debe posiblemente al aumento de la actividad motora producida por la propagación de la actividad epiléptica hacia áreas motoras. En cuanto a la diferencia significativa entre la latencia producida por la dosis de 50 y 100 U. I., se sabe que a mayor dosis de penicilina mayor es el efecto de la actividad epiléptica provocando crisis generalizadas. Y aunque se observó una recuperación casi total de las fases de sueño y vigilia a lo largo de las 36 horas de registro con la dosis de 50 U. I. de penicilina, no se descarta la idea de que este grupo al recibir primero la dosis de 50 U. I. de penicilina y un día después la dosis de 100 U. I., se este generando a un animal mucho más excitable por la penicilina y por lo tanto se obtenga mayor efecto con la de 100 U. I.

En cuanto al número de episodios y la duración de las fase, se observó la disminución significativa en el número de episodios de V, SOL y sueño MOR y el aumento significativo en la duración sólo de las fases de V y SOL, ya que la duración de la fase de sueño MOR disminuyó con ambas dosis de penicilina y únicamente fue significativa con la dosis de 100 U. I.

En relación a la disminución del número de fases del SOL, se sugiere que posiblemente las áreas que participan en la instalación del SOL, están siendo afectadas por la actividad epiléptica, mientras que el aumento de la duración de la fase de SOL, indicaría que las áreas encargadas del mantenimiento de esta fase estaría siendo reforzadas durante el aumento de la fase de vigilia. Para comprender que posibles mecanismos están participando en la instalación y mantenimiento de esta fase se propone lo siguiente: se sabe que el núcleo reticular del tálamo a través de redes tálamo corticales es el generador de husos en la corteza (Avanzini y cols., 2000) dichos patrones EEG estarían participando en el mantenimiento de la fase de SOL, ya que tienen las mismas características sincronizantes que tiene la actividad epiléptica, algunas de las áreas que participan en la sincronización cortical es el núcleo dorsal del *Rafe* y el núcleo reticular del tálamo en donde participan redes tálamo corticales. Por otro lado en relación a la instalación del SOL se podría sugerir que el hipotálamo anterior que corresponde a la región preóptica y núcleo supraquiasmático y que promueve al sueño (Nauta, 1946; Saper y cols., 2001), estaría siendo inhibido durante el aumento de la vigilia. Por lo tanto, se sugiere que en cuanto disminuye la actividad epiléptica, da paso a que los mecanismos inductores de sueño, en donde participan el hipotálamo anterior y núcleo supraquiasmático, favorezcan la instalación del SOL.

En cuanto al sueño MOR, el cual disminuyó en el número de episodios y en la duración de

la fase, se cree que posiblemente las áreas encargadas de la instalación y mantenimiento de ésta fase tuvieron una mayor respuesta a la actividad epiléptica. En cuanto al porcentaje del tiempo total de la fase de sueño MOR este fue el único que disminuyó ya que el porcentaje de las fases de V y SOL se mantuvo en sus valores control y únicamente la dosis de 100 U. I. provocó la disminución significativa del porcentaje del sueño MOR. Por lo tanto, se sugiere que la epileptogénesis produjo mayor efecto en el sueño MOR que en el SOL y la V. En cuanto a las áreas que tienen algún papel en la instalación y mantenimiento del sueño MOR, se sabe que el núcleo central de la amígdala participa en la modulación (Deboer y cols.,1998) y muy probablemente en la instalación de esta fase, ya que se a encontrado que con la aplicación de Carbacol, en el núcleo central de la amígdala de gatos, induce ritmos fásicos típicos del sueño MOR conocidos como ondas PGO, además también induce un reforzamiento a largo plazo del sueño MOR, es decir que produce el aumento significativo en el número de episodios del sueño MOR (Calvo y cols., 1996). En otro trabajo donde se estimula eléctricamente al núcleo central de la amígdala durante el sueño MOR, se observó el aumento de las ondas PGO (Calvo y cols., 1987). Estas ondas PGO no solo se han registrado en regiones pontinas, talámicas o de corteza, sino también en regiones como la amígdala del lóbulo temporal de gato (Calvo y Fernández-Guardiola, 1984). En las ratas también se ha logrado registrar ondas similares a las PGO de gato, estas se han registrado en el puente durante el sueño MOR y con la aplicación de microinyecciones de Carbacol en la parte dorsal del *núcleo subcoeruleus* (Datta y cols., 1998).

Así mismo, es importante mencionar que también se a encontrado que el núcleo central de la amígdala tiene proyecciones recíprocas hacia la región del PBL (Amaral y cols., 1992) y el núcleo pedúnculo pontino tegmental PPT (Semba y Fibiger, 1992), los cuales son áreas que participan en la generación de ondas PGO (Sakai y Jouvet, 1980) y que se cree que como los potenciales PGO preceden al sueño MOR, es posible que los generadores de estos potenciales participen en los mecanismos de instalación y mantenimiento del sueño MOR (Jouvet, 1972).

### 6.5 La acumulación por hora de cada fase de vigilia y sueño.

En cuanto a la acumulación por hora de cada una de las fases a lo largo de las 36 horas de registro, se observó que con la dosis de 50 U.I. disminuyó el tiempo acumulado por la fase de sueño MOR, mientras que el tiempo acumulado de la fase de SOL y la V no fueron significativamente afectados. En cuanto a la dosis de 100 U. I., se observó que el tiempo acumulado de la fase de V aumentó significativamente y el tiempo acumulado de la fase de SOL y sueño MOR disminuyeron, observándose una recuperación gradual conforme transcurrían las horas, aunque la recuperación del tiempo acumulado de la fase de sueño MOR fue mucho más lento, ya que mientras el tiempo acumulado de la fase de V y SOL se recuperaban dentro de las 24 horas de registro, el de la fase del sueño MOR, al final de las 36 horas del registro continuó siendo menor en comparación al control.

Es importante señalar que en el grupo control el tiempo acumulado por cada fase, que es representado por una inclinación ascendente, muestra un patrón particular en donde se observa que justo en la hora del cambio de luz a oscuridad o de oscuridad a luz, la inclinación disminuye ligeramente (figura 18, 19 y 20 ), esta variación que tienen las fases en la transición del periodo de luz a oscuridad, muestra que a pesar de que el sueño en la rata es polifásico, se puede notar la diferencia en el tiempo de acumulación del sueño entre el periodo de luz y el periodo de oscuridad, es decir que durante el periodo de luz, el tiempo total de sueño es de 63.1 % y durante el periodo de oscuridad es de 35.9 %, en relación ha esto se a descrito en trabajos previos que al menos el 69.9 % del sueño ocurre durante el día y el 34.3 % ocurre en la noche (Takeuchi, 1970). Por lo tanto al aplicar las dosis de 50 y 100 U.I. de penicilina la gráfica muestra que la inclinación ascendente se vuelve irregular y no se observa la disminución durante la transición del periodo de luz a oscuridad y de oscuridad a luz que muestra el control.

Por otra parte el análisis de la acumulación por hora de cada fase nos permitió observar que el deterioro del sueño provocado por la inducción de las espigas y las crisis epilépticas, tuvo un efecto a corto plazo, es decir que no se observó un deterioro permanente por la actividad epiléptica y aunque no hubo una recuperación total de todas las fases, como en el caso del sueño MOR, sí se observó la mejoría del sueño en las ratas, lo cual indica que los mecanismo implicados en el sueño ya no están siendo afectados por la epilepsia. Estos resultados concuerdan con lo reportado

por Calvo y colaboradores en 1994, en donde describen que el kindling amigdalino tiene un efecto transitorio sobre la organización del sueño en registros de 23 horas continuas realizados en gatos (Calvo y Fernández-Guardiola, 1994).

**6.6** El porcentaje del tiempo total de cada fase de acuerdo a los periodos de luz y oscuridad.

A diferencia de la acumulación por hora, este análisis permitió demostrar el efecto que tuvo la penicilina sobre el porcentaje del tiempo total de las fases de sueño y vigilia durante los periodos de luz y oscuridad. En el análisis de sueño del primer periodo de luz, se observó el aumento en el porcentaje del tiempo total de la fase V y por otro lado, la disminución en el porcentaje del tiempo total de la fase de SOL y de sueño MOR. Durante el periodo de oscuridad, se observó la disminución del porcentaje del tiempo total de la fase de V y el aumento únicamente del porcentaje de la fase de SOL, ya que el porcentaje del sueño MOR no tuvo cambios en comparación al control. En el segundo periodo de luz, los valores obtenidos del porcentaje del tiempo total de las fases de V y SOL fueron semejantes al control y el valor del porcentaje de la fase de sueño MOR aun fue significativamente menor en comparación al control, sin embargo la diferencia indica que la fase del sueño MOR esta regresando a sus valores control ya que ésta tuvo un valor significativo de  $p < 0.05$  en comparación a los obtenidos en el primer periodo de luz que fue de  $p < 0.0001$ .

Con respecto a lo observado se plantea lo siguiente, mientras un animal en condiciones control, duerme más durante el día y durante la noche se mantiene activo, aquí se observó un incremento de la fase de SOL en el periodo de oscuridad, pero no así con la fase de sueño MOR, la cual se mantuvo en sus valores control, se puede sugerir con respecto a esto que el sueño MOR se presenta después de que la fase de SOL regresa a sus valores control, por ejemplo se ha encontrado en humanos que después de la privación total de sueño durante una noche, la recuperación es primero de la fase IV del SOL y sólo hasta la segunda noche de recuperación aparece el rebote del sueño MOR (Webb y Agnew, 1965; Berger y cols., 1971). Por lo tanto concuerda con lo observado en el presente estudio, ya que en el periodo de oscuridad el sueño MOR se muestra estable y es en el segundo periodo de luz que incrementa el porcentaje, aunque aun no esta totalmente restablecido, sugiriendo que este ajuste se observará hasta el siguiente

periodo de luz, sin embargo este dato no se pudo corroborar porque únicamente se registraron 36 horas. En otro estudio en relación al decremento del sueño MOR en pacientes con crisis generalizadas tónico clónicas, coincide con lo reportado en el presente estudio en donde se encontró el aumento de la fase del SOL y el deterioro del sueño en general, siendo la fase de sueño MOR la más afectada, planteando que la fase de sueño MOR fue menor debido al aumento del SOL (Crespel y cols., 2000), dicho trabajo no reporta la diferencia que hay entre las fases de sueño y los periodos de luz y oscuridad, como se ha demostrado en el presente estudio, pero sí sugiere que mientras la fase de SOL se mantiene aumentada, la fase de sueño MOR no tiene posibilidad de regresar a sus valores control.

### **6.7 La privación del sueño.**

Por otra parte, los resultados obtenidos en el presente trabajo están muy relacionados a lo encontrado en trabajos de privación de sueño. Por ejemplo, se ha reportado tanto en humanos como en animales, que después de 24 horas de privación, se presenta un rebote del SOL y posterior a éste, un incremento del sueño MOR, el cual es observado durante las 12 horas de registro posteriores a la privación (Rechtschaffen y cols., 1999). En otro trabajo realizado en ratas privadas de sueño durante 24 horas continuas, se encontró el incremento inmediato del SOL y sueño MOR (Schwierin y cols., 1999). En el presente trabajo, si bien no se pretendía provocar la privación de sueño, sí se generó el aumento de la fase de vigilia la cual estaba acompañada de crisis generalizadas, y conforme fue disminuyendo la actividad epiléptica, se observó, a través del análisis de acumulación por hora de cada fase, un incremento progresivo de las fases de sueño, es decir que conforme van transcurriendo las horas del registro, los animales empezaron a dormir. Por tanto, es importante señalar que los animales no se privaron de sueño durante 24 horas, si no que éstos empezaron a dormir al cese o disminución de la actividad epiléptica. Sugiriendo que la epilepsia inhibe a los mecanismos de generación del sueño mientras ésta está presente.

### **6.8 El Estrés.**

Así mismo no se descarta la posibilidad de que el estrés también esté modificando al sueño, en relación a esto, en diversos trabajos se ha reportado cambios en las fases de sueño por la inducción

de estrés, por ejemplo en un trabajo realizado en ratas, se reportó que con 2 horas de inmovilización, hay un aumento del sueño MOR, el cual fue observado durante las 12 horas posteriores a la inmovilización (Rampin y cols., 1991). En el presente trabajo se sugiere que la actividad epiléptica es suficiente para generar estrés y aunque éste no se midió, no se descarta la posibilidad de que el estrés esté participando en la alteración del sueño. Además, hay que recordar que la amígdala también participa en respuestas de estrés, conductas de escape o furia (Deboer y cols., 1998; Pawlyk y cols., 2006).

### **6.9** Los fármacos anticonvulsivos.

Por otra parte se han descrito los efectos que tienen los fármacos anticonvulsivos sobre el sueño, se ha encontrado que estos efectos siguen siendo diversos y poco concluyentes, ya que mientras unos pueden producir la disminución en la duración de ciertos estadios del sueño otros pueden incrementarla. A nivel clínico, se ha observado que los pacientes epilépticos que muestran severos trastornos de sueño, al recibir tratamiento farmacológico para controlar las crisis, reportan que tienen una mejoría en su sueño. En un trabajo realizado a nivel experimental, se encontró que algunos fármacos son capaces de aumentar o disminuir las fases de sueño, por ejemplo la Fenitoina produce el aumento en la fase de SOL I y el decremento del sueño de ondas lentas II y sueño MOR, con el ácido valpróico, se produce el incremento de la fase de SOL I y con el Gabapentin se produce una mejora en el sueño en general (Legros y Bazil, 2003). Por lo tanto, considerando que los tratamientos farmacológicos tienen como finalidad disminuir las crisis epilépticas, también es importante entender el papel que juegan éstos en las fases de sueño.

## CONCLUSIÓN.

El modelo que se empleó tiene como característica principal inducir crisis secundariamente generalizadas es decir que, una vez que se administra la penicilina en la amígdala, por ser un área epileptógena, se induce la actividad epiléptica y se puede observar su propagación hacia otras áreas como es la corteza y el hipocampo, las cuales han sido implantadas con electrodos y también por que ésta actividad epileptógena se mantiene por más tiempo a la producida por el *kindling* eléctrico, por lo tanto éste modelo fue el adecuado para estudiar la interacción de la epilepsia del lóbulo temporal y el sueño.

Las espigas y las crisis epilépticas inducidas por la aplicación de 50 y 100 U. I. de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal, produjo el aumento significativo en la duración media de la fase de vigilia y SOL, la disminución significativa en el número de episodios de la fase de vigilia y SOL y sin cambios en el porcentaje del tiempo total de estas mismas fases. El sueño MOR presentó la disminución significativa en el número de episodios, en la duración media y en el porcentaje del tiempo total de la fase, principalmente con la aplicación de 100 U. I. de penicilina.

Durante la fase de SOL la actividad epiléptica se facilita observandose aumento de espigas en voltaje y frecuencia. En relación a la fase de sueño MOR esta actividad epiléptica es inhibida totalmente.

Los cambios observados en la organización de las fases de vigilia, SOL y sueño MOR no fueron permanentes, es decir que en el transcurso de las 36 horas de registro, con el análisis de la acumulación por hora, se observó una recuperación de las fases principalmente de la vigilia y SOL y si bien el sueño MOR no regreso a sus valores control, ya no fue significativo el decremento en las 36 horas de registro. Además también se observó en los registros control que cada una de las fases analizadas presenta una acumulación del tiempo uniforme, la cual varía ligeramente en la transición del periodo de luz al de oscuridad y de éste al de luz, y que al producir la actividad epiléptica este cambio entre la transición del periodo de luz al de oscuridad y viceversa no se observa.

La actividad epiléptica al inducirse en el periodo de luz provocó la interrupción del SOL y sueño MOR y al iniciar el periodo de oscuridad se presentó el incremento de la fase de SOL

y en el siguiente periodo de luz las fases de vigilia y SOL regresaron a sus valores control. El sueño MOR no presentó aumento durante el periodo de oscuridad, únicamente se observó el aumento de éste en el siguiente periodo de luz.

### **Aportaciones y Perspectivas.**

Se realizó por primera vez el estudio de la organización del sueño durante registro continuo de 36 horas bajo la inducción de actividad epiléptica por la aplicación de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal y el establecimiento de crisis con ratas en libertad de movimiento.

Se observó que la duración de la acumulación por hora de cada una de las fases de vigilia y sueño durante la transición del periodo de luz al de oscuridad y de este al de luz, presenta una ligera variación en la inclinación.

Se demostraron en la rata dos aspectos importantes, el primero es que durante las fase de sueño MOR la actividad epiléptica es inhibida y el segundo que el deterioro del sueño producido por la epilepsia es transitorio.

Por otro lado el presente estudio da pie a futuras investigaciones para analizar los distintos componentes electrográficos que pudieran tener un papel importante en la interacción del sueño y la epilepsia.

En otro campo de investigación en el cual puede ser muy útil este estudio es el de la farmacología, mediante el uso de agonistas y antagonistas en donde participen neurotransmisores como el GABA.

## REFERENCIAS

Amaral D, Price J, Pitkänen A y Carmichael S (1992). Anatomical organization of the primate amygdaloid complex. En: *The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction*. Aggleton J P, editor New York : Wiley-Liss: p.p. 1-66.

Amzica F y Steriade M (1998). Electrophysiological correlates of sleep delta waves. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 107:69-83.

Arné B M, Calvet U, Thiberge M y Arbus L (1982). Effects of sleep deprivation in an EEG study of epileptics. En: *Sleep and Epilepsy*. Sterman M B, Shouse M, Passouant P, editors New York. p.p. 441-452.

Asai M, Martínez A, Fernández-Mas R y Fernández-Guardiola A (1995). Penicillin-G induced interictal activity increases both opioid peptide tissue content and in vitro release in the rat brain. *Neuropeptides* 29(3):163-170.

Aserinsky E y Kleitman N (1953). Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science* 118:273-274.

Aserinsky E (1965). Periodic respiratory patterns occurring in conjunction with eye movements during sleep. *Science* 67:313-326.

Autret A, Laffont F, Billard C, Lucas B y Degiovanni E (1982). Interictal EEG activity during sleep and waking in patients with grand mal seizures. En: *Sleep and Epilepsy*. Sterman M, Shouse M, Passouant P, editors Nueva York, London: Academic Press, p.p. 287-299.

Avanzini G y Fariello R (1997). Animal models of epilepsies. En: *Molecular and cellular targets for anti-epileptic drugs*. Avanzini G, Regesta G, Tanganelli P, Avoli M, editors Londres, Inglaterra: p.p. 91-109.

Avanzini G, Panzica F y Curtis M (2000). The role of the thalamus in vigilance and epileptogenic mechanisms. *Clinical Neurophysiology* 111(2):19-26.

Avoli M (1984). Penicillin induced hyperexcitability in the *in vitro* hippocampal slice can be unrelated to impairment of somatic inhibition. *Brain Research* 323:154-158.

Baldy-Moulinier M (1982). Temporal lobe epilepsy and sleep organization. En: *Sleep and Epilepsy*. Sterman M B, Shouse M, Passouant P, editors New York: Academic Press New York, p.p. 347-359.

Bazil C, Castro L y Walczak T (2000). Reduction of rapid eye movement sleep by diurnal and nocturnal seizures in temporal lobe epilepsy. *Archives of neurology* 57:363-368.

Bazil C (2003). Epilepsy and sleep disturbance. *Epilepsy and Behavior* 4:39-45.

- Benca R, Obermeyer W, Shelton S, Droster J y Kalin N (2000). Effects of amygdala lesions on sleep in rhesus monkeys. *Brain Research* 879:130-138.
- Berger H (1929). Über das elektroencephalogram des menschen. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 87:527-570.
- Berger R, Walker J, Scott T, Magnuson L y Pollack S (1971). Diurnal and nocturnal sleep stage patterns following sleep deprivation. *Psychonomic Science* 23:273-275.
- Besset A (1982). Influence of generalized seizures on sleep organization. En: Sleep and Epilepsy. Serman M B, Shouse M N, Passouant P, editors New York, p.p. 339-346.
- Brailowsky S y Otero S (1991). Epilepsia experimental. Academia Mexicana de Neurología. México.
- Bremer F (1935). Cerveau isolé et physiologie du sommeil. *Comptes Rendus Biologies* 118:1235-1241.
- Cadilhac J y Passouant P (1964). Influence of various phases of night sleep in the epileptic discharges in man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 17:441-442.
- Cadilhac J, Vlahovitch B y Delage M (1965). Considerations on the changes in epileptic discharges during the phase of eye movements. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 18(1):96.
- Cadilhac J (1982). Complex partial seizures and REM sleep. En: Sleep and epilepsy. Serman MB, Shouse M, Passouant P, editors Nueva York, London: Academic Press, p.p. 315-324.
- Calvo J M, Alvarado R, Briones R, Paz C y Fernández-Guardiola A (1982). Amygdaloid kindling during rapid eye movement (REM) sleep in cats. *Neuroscience Letter* 29:255-259.
- Calvo J M y Fernández-Guardiola A (1984). Phasic activity of the basolateral amygdala, cingulate gyrus and hippocampus during REM sleep in the cat. *Sleep* 7(3):202-210.
- Calvo J M, Badillo S, Morales R y Palacios S (1987). The role of the temporal lobe amygdala in ponto-geniculo-occipital activity and sleep organization in cats. *Brain Research* 403(1):22-30.
- Calvo J M (1991). Amygdaloid kindling during wakefulness and paradoxical sleep in the cat. 1. Inhibitory influence of paradoxical sleep on kindling development. *Epilepsy Research* 9:113-120.

Calvo J M y Fernández-Mas R (1994). Transitory and short-duration changes of sleep organization provoked by amygdaloid kindling in the cat: A daily 23-hour sleep recording study. *Epilepsy Research* 19:1-13.

Calvo J M, Simón-Arceo K y Fernández-Mas R (1996). Prolonged enhancement of REM sleep produced by carbachol microinjection into the amygdala. *Neuroreport* 7(2):577-580.

Campbell S y Tobler I (1984). Animal sleep: a review of sleep duration across phylogeny. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 8:269-300.

Cepeda C, Pacheco M, Hernández S y Almanza X (1986). Kainic Acid-Induced Limbic Seizures in cats: Some reflection on sleep-epilepsy interactions. *Epilepsia* 27(4):375-384.

Collins R (1976). Metabolic response to focal penicillin seizures in rat: spike discharge vs. afterdischarge. *Journal of Neurochemistry* 27:1473-1482.

Consolazione A, Priestley J y Cuello A (1984). Serotonin-containing projections to the thalamus in the rat revealed by a horseradish peroxidase and peroxidase antiperoxidase doublestaining technique. *Brain Research* 322:233-243.

Corsi Cabrera M, Grinberg Z J y Arditti L (1975). Caudate nucleus lesion selectively increases paradoxical sleep episodes in the rat. *Physiology and Behavior* 14(1):7-11.

Corsi Cabrera M (1983). Aspectos cíclicos y temporales del sueño. En: Psicofisiología del sueño. Trillas, editor México, p.p 57-66.

Crespel A, Baldy-Moulinier M y Coubes P (1998). The relationship between sleep and epilepsy in frontal and temporal lobe epilepsies: Practical and Physiopathologic considerations. *Epilepsia* 39(2):150-157.

Crespel A, Coubes P y Baldy-Moulinier M (2000). Sleep influence on seizures and epilepsy effects on sleep in partial frontal and temporal lobe epilepsies. *Clinical Neurophysiology* 111(2):54-59.

Datta S (1997). Cellular basis of pontine ponto-geniculo-occipital wave generation and modulation. *Cellular and Molecular Neurobiology* 17(341):365.

Datta S, Siwek D, Patterson E y Cipolloni P (1998). Localization of pontine PGO wave generation sites and their anatomical projections in the rat. *Synapse* 30:409-423.

Datta S y Hobson JA (2000). The rat an experimental model for sleep neurophysiology. *Behavioral Neuroscience* 114(6):1239-1244.

Datta S, Mavanji V, Ulloor J y Patterson E (2004). Activation of phasic pontine-wave generator prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced learning impairment in

the rat: A mechanism for sleep-dependent plasticity. *Journal of Neuroscience*, 24 (6): 1416-1427.

Datta S, Saha S, Prutzman S, Mullins O y Mavanji V (2005). Pontine-Wave generator activation-dependent memory processing of avoidance learning involves the dorsal hippocampus in the rat. *Journal Neuroscience Research*, 1, 80 (5): 727-737.

Datta S y MacLean R (2007). Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 31 (5):775-824.

Deboer T, Sanford L, Ross R y Morrison A (1998). Effects of electrical stimulation in the amygdala on ponto-geniculo-occipital waves in rats. *Brain Research* 793:305-310.

Declerck A, Wauquier A y Sijben-Kiggen R (1982). Normative study of sleep in different forms of epilepsy. En: *Sleep and Epilepsy*. Serman M B, Shouse M N, Passount P, editors New York, p.p. 327-337 .

Della Paschoa O E, Kruk M R, Hamstra R, Voskuyl R A y Danhof M (1997). Seizure patterns in kindling and cortical stimulation models of experimental epilepsy. *Brain Research* 770:221-227.

Feria Velasco A, Martínez de Muñoz D y Donnadiu F (1989). Sueño y Epilepsia. En: *Epilepsia, un enfoque multidisciplinario*. Trillas, editor México, cap. 14.

Fernández-Guardiola A (1886). Modelos experimentales de epilepsia. *Psiquiatría* 2:59-68.

Fernández-Guardiola A (1992). La epilepsia: de los modelos experimentales a la clínica. *Gaceta Médica de México* 128(3):343-347.

Fernández-Guardiola A y Ayala F (1971). Red nucleus fast activity and signs of paradoxical sleep appearing during the extinction of experimental seizures. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 30:547-555.

Fernández-Guardiola A, Martínez A, Gutiérrez R y Fernández-Mas R (1991). Amygdaline penicillin focus replicates and modulates electrical amygdaloid kindling in the cat. *Proceedings of Western Pharmacology Society* 34:219-222.

Fernández-Guardiola A, Martínez A y Fernández-Mas R (1995). Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23-h recording), and brain mapping study. *Epilepsy Research* 22:127-136.

Frank G (1969). A study of the inter-relations of spike discharge density and sleep stages in epileptic patients. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 26(2):238.

Fuller P, Gooley J y Saper C (2006). Neurobiology of the sleep-wake cycle: sleep architecture, circadian regulation, and regulatory feedback. *Sleep* 21(6): 482-493.

Gastaut H, Roger J, Ouachi S, Timsit M y Broughton R (1963). An electroclinical study of generalized epileptic seizures of tonic expression. *Epilepsia* 4:15-44.

Gastaut H, Batini C, Fressy J, Broughton R, Tassinari C y Vittini F (1965). Etude electroencephalographique des phenomenes episodiques epileptiques au cours du sommeil. En: *Sleep and Epilepsy*. Sterman M B, Shouse M N, Passount P, editors New York, p.p. 151-164.

Gastaut H (1968). Les Myoclonies. *Revue Neurologique* 119:1-30.

Gibbs E L y Gibbs F (1947). Diagnostic and localizing value of electroencephalographic studies in sleep. *Association Research The journal Nervous and Mental Disease* 26:366-376.

Gigli Gian L y Gotman J (1992). Effects of seizures, kindling and carbamazepine on sleep organization in cats. *Epilepsia* 33(1):14-22.

Gillin J C, Salín-Pascual R, Velázquez-Moctezuma J, Shiromani P y Zoltoski R (1993). Cholinergic receptors subtypes and REM sleep in animals and normal controls. *Progress in Brain Research* 98:379-387.

Gloor P, Quesney L F y Zumstein H (1977). Pathophysiology of generalized epilepsy in the cat: The role of cortical an subcortical structures. II. Topical application of penicillin to the cerebral cortex an to subcorical structures. *Electroencephalography Clinical and Neurophysiology* 43:79-94.

Goddard G, McIntery D y Leech C (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology* 25:295-330.

Gottesmann C (1992). Detection of Seven Sleep-Waking Stages in the Rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 16:31-38.

Granillo R J, Zanniello y Cristiano A (2002). Epilepsia. Modelos experimentales. Epileptogénesis. *Revista Neurológica Argentina* 27:31-40.

Guzmán F, Alcaraz V y Fernández-Guardiola A (1958). Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos* 16:29-31.

Hobson J (1967). Electrographic correlates of behavior in the frog with special reference to sleep. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 22:113-121.

International League Against Epilepsy (2003). The History and Stigma of Epilepsy. *Epilepsia* 44(suplemento 6):12-14.

Janz D (1974). Epilepsia and the sleeping-waking cycle. En: The epilepsies. Vinken PJ, Bruyn GW, editors Amsterdam: North Holland: p.p. 457-490.

Jefferys J, Borck C y Mellanby J (1995). Chronic focal epilepsy induced by intracerebral tetanus toxin. *Italian Journal of Neurologia Sciences* 16:27-32.

Jenni O G, Borbély A A y Achermann P (2003). Development of the nocturnal sleep electroencephalogram in human infants. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 283:528-538.

Jouvet-Mounier D, Astic L y Lacote D (1970). Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat and guinea pig during the first postnatal month. *Developmental Psychobiology* 2(216):239.

Jouvet M, Jouvet D y Valatx J L (1963). Etude du sommeil chez le chat pontique chronique: sa suppression automatique. *Comptes Rendus Biologies* 157:845-849.

Jouvet M (1972). The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergebnisse der Physiologie* 64:166-307.

Jouvet M (1998). Historia natural de los sueños. En: El sueño y los sueños. Fondo de Cultura Económica, editor México, cap. 2.

Jouvet M (1999). Sleep and serotonin: An unfinished story. *Neuropsychopharmacology* 21(2):24-27.

Karashima A, Nakao M, Honda K, Iwasaki N, Katayama N y Yamamoto M (2004). Theta wave amplitude and frequency are differentially correlated with pontine waves and rapid eye movements during REM sleep in rats. *Neuroscience Research* 50: 283-289.

Killam K F, Killam E K y Naquet R (1967). Studies on the epilepsy induced by photic stimulation in *Papio papio*. *Electroencephalography Clinical and Neurophysiology* 23(1):91.

Klein M, Michel F y Jouvet M (1964). Polygraphic study of sleep in birds. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie* 158:99-103.

Kleitman N (1963). Sleep and wakefulness. Chicago UP, editor Chicago: p. 522.

Kopeloff L M, Barrera S E y Kopeloff N (1942). Recurrent convulsive seizures in animals produced by immunologic and chemical means. *American Journal of Psychiatry* 98:881-902.

- Kumar P y Raju T R (2001). Seizure susceptibility decreases with enhancement of rapid eye movement sleep. *Brain Research* 922:299-304.
- Legros B y Bazil C (2003). Effects of antiepileptic drugs on sleep architecture: a pilot study. *Sleep Medicine* 4:52-55.
- López G, Hoyo R y Rodríguez N (2004). Efecto de las crisis epilépticas en la arquitectura del sueño. *Revista de Neurología* 38(2):176-180.
- Loomis A, Harvey E y Hobart G (1937). Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. *The Scientific Monthly* 45(2):127-144.
- Magnes J, Moruzzi G y Pompeiano O (1961). Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Archives Italiennes de Biologie* 99:33-67.
- Malow B A, Fromes G A y Aldrich M (1997). Usefulness of polysomnography in epilepsy patients. *Neurology* 48:1389-1394.
- Malow B A, Lin X, Kushwaha R y Aldrich M (1998). Interictal spiking increases with sleep depth in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 39(12):1309-1316.
- Martínez A, Fernández-Mas R, López E, Vega G y Fernández-Guardiola A (2000). Efecto kindling producido por un foco penicilínico, en preparaciones crónicas de gatos. Estudio polisomnográfico (registros de 23 horas) y de mapeo cerebral. *Salud Mental* 23(5):26-34.
- Martínez A, López E, Vega G, Fernández-Mas R y Fernández-Guardiola A (2004). Efecto de la estimulación del nervio vago sobre la epilepsia focal amigdalina en la rata. *Salud Mental* 27(5):62-72.
- Massieu G (1976). Algunos aspectos bioquímicos y electrofisiológicos de la epilepsia. *Gaceta Medica de México* 112(1):3-21.
- Meldrum B S y Horton R (1971). Convulsive effects of 4-deoxypyridoxine and of bicuculline in photosensitive baboons (*Papio papio*) and in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Brain Research* 35:419-436.
- Minecan D, Natarajan A, Marzec M y Malow B (2002). Relationship of epileptic seizures to sleep stage and sleep depth. *Sleep* 25(2):56-61.
- Moruzzi G y Magoun H (1949). Brain Stem Reticular Formation and Activation of the EEG. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 1:455-473.
- Nauta W J (1946). Hypothalamic regulation of sleep in rats. Experimental study. *Journal of Neurophysiology* 9:285-316.

Neuman R (1986). Suppression of penicillin-induced focal epileptiform activity by Locus Coeruleus Stimulation: Mediation by an alfa1-Adrenoceptor. *Epilepsia* 27(4):359-366.

Nissinen J, Halonen T, Koivisto E y Pitkänen A (2000). A new model of chronic temporal lobe epilepsy induced by electrical stimulation of the amygdala in rat. *Epilepsy Research* 38:177-205.

Nuñez M A y Amzica F (2004). Mecanismos de generación de las oscilaciones lentas del electroencefalograma durante el sueño. *Neurología* 39(7):628-633.

Nuñez Orozco L (2004). Manual clínico de Epilepsia. México.

Olney J W, Collins R C y Sloviter R (1986). Excitotoxic mechanisms of epileptic brain damage. *Advances in Neurology* 44:857-877.

Olsen R y Avoli M (1997). GABA and epileptogenesis. *Epilepsia* 38(4):399-407.

Paré D, Smith Y, Parent A y Steriade M (1988). Projections of upper brainstem cholinergic and non-cholinergic neurons of cat to intralaminar and reticular thalamic nuclei. *Neuroscience* 25:69-88.

Parrino L, Smerieri A, Spaggiari M C y Terzano M G (2000). Cyclic alternating pattern (CAP) and epilepsy during sleep: how a physiological rhythm modulates a pathological event. *Clinical Neurophysiology* 111(supl 2):39-46.

Passouant P, Cadilhac J y Delange M (1965). Indications apportées par l'étude du sommeil de nuit sur la physiopathologie des épilepsies. *International Journal of Neurology* 5:207-216.

Passouant P (1975). Neurological disease and sleep. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 7:67-73.

Passouant P (1982). Historical views on sleep and epilepsy. En: Sleep and epilepsy. Serman MB, Shouse M, Passouant P, editors Nueva York, London: Academic Press, p.p. 1-6.

Pawlyk A C, Sanford L D, Brennan F X, Morrison A R y Ross R J (2006). Corticotropin-releasing factor microinjection into the central nucleus of the amygdala alters REM sleep. *Pharmacological Reports* 58:125-130.

Paxinos G y Watson C (1998). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 4<sup>a</sup> ed.

Pitkänen A, Tuunanen J, Kälviäinen R, Partanen K y Salmenperä T (1998). Amygdala damage in experimental and human temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research* 32:233-253.

Pitkänen A, Schwartzkroin P y Moshé S (2006). Models of seizures and epilepsy. Elsevier, USA, p.p. 111-159.

Placidi F, Diomedi M y Scalise A (2000). Effect of anticonvulsants on nocturnal sleep in epilepsy. *Neurology* 54(1):25-32.

Prince D y Farrel D (1969). "Centrencephalic" spike wave discharges following parenteral penicillin injection in the cat. *Neurology* 19(309):310.

Puizillout J J, Gaudin Chazal G, Daszuta A, Seyfritz N y Ternaux J (1979). Release of endogenous serotonin from *encéphale isolé* cats. II. Correlations with raphe neuronal activity and sleep and wakefulness. *Journal of Physiology* 75:531-537.

Purpura D, Penry J, Woodbury D, Tower D y Walter R (1972). Experimental models of epilepsy - a manual for the laboratory. New York. p. p. 114-172.

Racine R (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 32:281-294.

Salado I R, García A R, Aguilar M C y Calvo J M (2008) Inhibitory effect of state independent ponto-geniculo-occipital waves on seizure occurrence induced by local application of penicillin into the temporal lobe amygdala. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, en prensa.

Rampin C, Cespuglio R, Chastrette N y Jouvét M (1991). Immobilisation stress induces a paradoxical sleep rebound in the rat. *Neuroscience Letters* 126(2):113-118.

Raol Y H y Meti B (1998). Sleep Wakefulness Alterations in Amygdala-Kindled rats. *Epilepsia* 39(11):1133-1137.

Rechtschaffen A y Kales A (1968). A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System For Sleep Stages of Human Subjects. 1ª ed. Washington D. C.

Rechtschaffen A, Bergmann B, Gilliland M y Bauer K (1999). Effects of method, duration, and sleep stage on rebounds from sleep deprivation in the rat. *Sleep* 22(1):11-31.

Rondouin G, Baldy-Moulinier M y Passouant P (1980). The influence of hippocampal kindling on sleep organization in cats. Effects of a alfa-metil-paratyrosine. *Brain Research* 181:413-424.

Sakai K y Jouvét M (1980). Brain stem PGO-on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Research* 194(2):500-505.

Sammaritano M, Gigli GL y Gotman J (1991). Interictal spiking during wakefulness and sleep and the localization of foci in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 41(2):290-297.

- Saper C B, Chou T C y Scammell T E (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences* 25(12):726-731.
- Sato M y Nakashima T (1975). Kindling: secondary epileptogenesis sleep and catecholamines. *Canadian Journal of Neurological Sciences* 5:439-446.
- Schwierin B, Borbély A A y Tobler I (1999). Prolonged effects of 24-h total sleep deprivation on sleep and sleep EEG in the rat. *Neuroscience Letters* 261:61-64.
- Semba K y Fibiger H (1992). Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculo-pontine tegmental nuclei in the rat: a retro -and antero- grade transport and immunohistochemical study. *Journal of Comparative Neurology* 323(3):387-410.
- Shouse M, Faber P R y Staba R (2000). Physiological basis: how NREM sleep components can promote and REM sleep Components can suppress seizure discharge propagation. *Clinical Neurophysiology* 111(supl 2):9-18.
- Shouse M N y Sterman M (1981). Sleep and kindling: II. Effects of generalized seizure induction. *Experimental Neurology* 71(3):563-580.
- Siegel S (1985). Estadística no paramétrica. novena ed. México.
- Steriade M, Paré D, Parent A y Smith Y (1988). Projections of cholinergic and non-cholinergic neurons of the brainstem core to relay and associational thalamic nuclei in the cat and macaque monkey. *Neuroscience* 25:47-67.
- Steriade M (2003). Neuronal properties, network operations and behavioral signs during sleep states and wakefulness. En: Neuronal substrates of sleep and epilepsy. Cambridge University, editor Reino Unido, Cambridge: p.p. 89-207.
- Sterman M B, Shouse M N y Passount P (1982). Sleep and Epilepsy. New York. p.p. 1-531.
- Tachibana N, Shinde A, Ikeda A, Akiguchi I, Kimura J y Shibasaki H (1996). Supplementary motor area seizure resembling sleep disorder. *Sleep* 19(10):411-416.
- Takeuchi E (1970). Polygraphical study on the wakefulness-sleep cycle of the rat. *Shinrigaku Kenkyu* 41(5):248-256.
- Tanaka T y Naquet R (1975). Kindling effect and sleep organization in cats. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 39(5):449-454.
- Turski W A, Cavalheiro E A, Schwartz M, Czuczwar S J, Kleinrok Z y Turski L (1983). Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioral electroencephalographic and neuropathological study. *Behavioral Brain Research* 9:315-335.

- Vaquero P C (1993). Manual de experimentación animal. 1 ed. España.
- Vertes R y Kocsis B (1997). Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience* 81: 893-926.
- Von Economo C (1929). Schlaftheorie. *Ergebnisse der Physiologie* 28:312-339.
- Walker J M y Berger R J (1972). Sleep in the domestic pigeon *Columba livia*. *Behavior Biology* 7(2):195-203.
- Wayne W D (2004). Bioestadística Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4a ed. México.
- Webb W y Agnew Jr H (1965). Sleep: Effects of a restricted regime. *Science* 150:1745-1747.
- Weiss T y Roldan E (1964). Comparative study of sleep cycles in rodents. *Experientia* 29:280-281.
- Woodbury Dixon (1980). Convulsants drugs: Mechanims of action. En: Antiepileptic Drugs: Mechanims of actions. Glaser G.H, Penry J K, Woodbury D M, editors New York: p.p. 249-302.
- Zygierewicz J, Blinowska K J, Durka P J, Szelenberger W, Niemcewicz S y Androsiuk (1999). High resolution study of sleep spindles. *Clinical of Neurophysiology* 110(12):2136-2147.