



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE PSICOLOGÍA

**EFECTO DE LA MICROINYECCIÓN DE AGONISTAS
GABAÉRGICOS EN EL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO
MEDIAL SOBRE LAS CRISIS GENERALIZADAS TÓNICO
CLÓNICAS PROVOCADAS POR PENTILENETETRAZOL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN PSICOLOGÍA

P R E S E N T A :

JOSÉ ALEJANDRO GRANDE TELLEZ

JURADO DE EXAMEN:

TUTOR DR. VÍCTOR M. MAGDALENO MADRIGAL

COMITÉ: DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ

MTRO. HUMBERTO ROSELL BECERRILL

DR. EDUARDO ALEJANDRO ESCOTTO CORDOVA

MTRO. MARTÍN PÉREZ MENDOZA





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.



Se agradece al Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación de la Dirección de Investigación en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz por prestar el espacio y materiales utilizados para el desarrollo del presente trabajo, el cual fue realizado bajo el proyecto de investigación: Efecto de la estimulación del Nervio Vago y el Núcleo del Tracto Solitario sobre diferentes niveles de excitabilidad cerebral con número de proyecto: NC123240.1

Se agradece a la Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad por el apoyo económico prestado por medio del programa de becas de inicio a la investigación (PROBEI).

Índice

Resumen	1
1 Introducción	1
1.1 Epilepsia	1
1.2 Breve historia de la epilepsia.....	2
2 Clasificación de las crisis epilépticas y síndromes epilépticos	3
3 Etiología de los síndromes epilépticos	6
4 Mecanismos GABAérgicos y glutamatérgicos de la epilepsia.....	6
5 Correlatos electrofisiológicos de las crisis	7
6 Estado epiléptico	9
6.1. Muerte súbita inesperada por epilepsia (SUDEP)	10
6.2 Mecanismos del SUDEP	11
7 Tratamientos para el control de la Epilepsia	12
7.1 Tratamientos farmacológicos	12
7.2 Neurocirugía de la epilepsia.....	12
7.3 Estimulación magnética transcraneal	14
7.4 Estimulación eléctrica del sistema nervioso.....	16
7.4.1 Estimulación eléctrica directa.....	16
7.4.2 Estimulación eléctrica indirecta	17
7.5 Estimulación eléctrica del nervio trigémino.....	18
7.6 Estimulación eléctrica del nervio glosofaríngeo	18
7.7 Estimulación eléctrica del nervio vago.....	19
8 Modelos experimentales de epilepsia.....	20
8.1 Kindling.....	21
8.2 Modelos genéticos	22
8.3 Modelos químicos	23
9 Núcleo del tracto solitario y epilepsia	26
10. Planteamiento del problema	28
10.1 Objetivo General	28

10.2	Objetivos particulares.....	28
10.3	Hipótesis.....	29
11	Metodología	29
11.1	Aparatos	29
11.2	Material	29
11.3	Sustancias químicas.....	30
11.4	Animales y grupos experimentales.....	30
11.5	Cirugía.....	31
11.6	Registro EEG y Micro-inyección de agonistas GABAérgicos.....	31
11.7	Procedimiento Histológico (tinción de Nissl)	32
11.8	Análisis estadísticos	33
12	Resultados	34
12.1	Histología	34
12.2	Efecto de la micro-inyección de agonistas GABAérgicos en NTSm sobre el índice de mortandad.....	35
12.3	Latencia para la primera CGTC	35
12.4	Número de CGTC	36
12.5	Promedio del número de DEO	37
12.6	Potencia espectral de una CGTC.....	38
12.7	Análisis de potencia por la transformada rápida de Fourier (FFT)	39
7.0	Discusión.....	43
	Bibliografía	46

Índice de abreviaturas

4V	Cuarto ventrículo
AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
CE	Crisis epilépticas
CGTC	Crisis Generalizada Tónico Clónica
CxFD	Corteza Frontal Derecha
CxFI	Corteza Frontal Izquierda
CxPD	Corteza Parietal Derecha
CxPI	Corteza Parietal Izquierda
DPD	Descarga Paroxística Despolarizante
EE	Estado Epiléptico
EEG	Electroencefalografía
EENAT	Estimulación Eléctrica del Núcleo Anterior del Tálamo
EENG	Estimulación Eléctrica del Nervio Glossofaríngeo
EENV	Estimulación Eléctrica del Nervio Vago
EMT	Estimulación Magnética Transcraneal
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GAD	Glutamato descarboxilasa
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg
Glu	Glutamato
ILAE	International League Against Epilepsy
IP	Intraperitoneal
KA	Ácido kaínico

Med	Núcleo Medial (fastigial) Cerebelar
MRI	Magnetic Resonance Imagin
MVe	Núcleo Medial Vestibular
NCMT	Núcleo Centro-Medial del Tálamo
NG	Nervio Glossofaríngeo
NMDA	N-metil-D-aspartato
NT	Nervio Trigémimo
NTS	Núcleo del Tracto Solitario
NV	Nervio Vago
PD	Post-Descarga
PTZ	Pentilenetetrazol
SE	Síndrome epiléptico
SNC	Sistema Nervioso Central
SUDEP	Sudden Unexpected Death in Epilepsy
WAG/Rij	Wistar Albino Glaxo/Rij rat

EFFECTO DE LA MICRO-INYECCIÓN DE AGONISTAS GABAÉRGICOS EN EL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO MEDIAL SOBRE LAS CRISIS GENERALIZADAS TÓNICO CLÓNICAS PROVOCADAS POR PENTILENETETRAZOL

Resumen

El núcleo del tracto solitario (NTS) es el primer relevo sináptico de las aferencias del nervio vago hacia el cerebro anterior. El NTS contiene células GABAérgicas, las cuales participan en la regulación de funciones autónomas y límbicas. Recientemente, se ha sugerido un papel modulador del NTS en el efecto anticonvulsivo generado por la estimulación eléctrica del nervio vago. Sin embargo, es poco lo que se sabe sobre qué neurotransmisores en el NTS están implicados en el efecto anticonvulsivo. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la micro-inyección de agonistas GABAérgicos en el NTS porción medial (NTSm), sobre las crisis convulsivas provocadas por pentilinetetrazol (PTZ). Se utilizaron ratas Wistar macho (250-300 gr). Se implantó estereotóxicamente una cánula en el NTSm izquierdo; para el registro electroencefalográfico (EEG) se implantaron tornillos en el lóbulo frontal, parietal y uno en el lóbulo occipital que sirvió de referencia. Se dividieron en tres grupos: Grupo GABA, Grupo muscimol y Grupo baclofen, de los primeros dos se inyectaron 250 nl/1 min de una disolución concentrada a 1 Molar y de la última se inyectó la misma cantidad pero de una concentración de 1 mili-Molar; cinco minutos posteriores a la micro-inyección se inyectó una dosis de 70 mg/kg de PTZ vía IP. Se analizó la latencia, la duración, la frecuencia de crisis generalizadas, las descargas espiga-onda y la potencia espectral durante una crisis generalizada tónico clónica (CGTC). Los resultados indican que un aumento en la actividad GABAérgica en el NTSm protege contra las CGTC y contra la muerte por estado epiléptico (EE). Los resultados sugieren que el efecto protector podría estar mediado por las conexiones que el NTSm tiene con el *locus coeruleus* (LC) y núcleo dorsal del rafe, núcleos que han sido relacionados con el efecto anticonvulsivo de la EENV.

1 Introducción

1.1 Epilepsia

La epilepsia es un desorden cerebral crónico que afecta a personas de todos los países. Se caracteriza por ataques recurrentes que son la manifestación física de descargas eléctricas excesivas, súbitas y a menudo breves, de grupos de células cerebrales. Las descargas pueden localizarse en diferentes partes del cerebro.

La epilepsia es una de las afecciones más antiguas, y durante siglos ha estado rodeada por el miedo, el desconocimiento, la discriminación y la estigmatización social que persiste aún en muchos países y puede afectar a la calidad de vida de los pacientes y de sus familias. Actualmente afecta a 50 millones de personas, de las cuales el 30% son resistentes al tratamiento farmacológico [1].

1.2 Breve historia de la epilepsia

La palabra epilepsia (πληψία) se origina del verbo Griego *epilambanein*, que significa intercepción, poseer o afligir. Los antiguos griegos consideraban a la epilepsia como un miasma que era lanzado al alma, el cual se consideraba un castigo divino para los pecadores.

Si bien la palabra epilepsia tiene sus orígenes en Grecia, no así la condición que denota el vocablo, ya que se pueden encontrar antecedentes de la enfermedad en culturas anteriores a la griega.

El dato más antiguo que se tiene sobre la descripción de una crisis epiléptica (CE) se encuentra en un documento de hace 2000 años a.C., dicho texto se encuentra escrito en Acadio, lengua que era usada en la antigua región de Mesopotamia. En este texto se describe a una persona con síntomas que asemejan a una CE: su cuello gira a la izquierda, sus manos y pies son tensados, sus ojos se abren por completo y de su boca fluye espuma sin que tenga conciencia de esto. La condición era conocida como *Antasubbu* traducido como “la mano del pecado” la cual era provocada por el dios de la luna.

Los textos médicos del antiguo Egipto, los cuales datan de 1700 a.C., hacen referencia a convulsiones epilépticas al describir a pacientes que se estremecen excesivamente. Estos son los primeros datos de crisis focales causadas por irritación cortical resultante de la exploración de una herida abierta en la cabeza.

En el *Sakikku*, texto médico de la antigua cultura Babilónica que data de 1067 a.C., se hace referencia a la condición epiléptica con el término de *Antasubba*. El texto describe crisis febriles, crisis en infantes, el estado post-ictal, crisis sensoriales y focales, crisis parciales y complejas simples, estado epiléptico y narcolepsia.

En el código de Hammurabi (1790 a.C.), se expresa que un esclavo puede ser regresado y el dinero rembolsado si la condición conocida como *bennu* aparece dentro del primer mes después de la compra.

En la medicina india, la epilepsia se atribuía a una disfunción cerebral y no a la intervención divina. En el *Charaka Samhita Sutra* escrito en el año 600 a.C., Atreya define la epilepsia como: una pérdida paroxística de la conciencia debido a la perturbación de la memoria y del entendimiento asistida por crisis convulsivas. En el texto indio se describen cuatro tipos de epilepsia, al igual que síntomas premonitorios y un tipo de epilepsia llamada *Abasmara* en la que el paciente pierde la memoria [2].

La primera descripción formal de la epilepsia como una enfermedad se le atribuye al padre de la medicina, Hipócrates de Cos (460-370 a. C.), en su tratado sobre la enfermedad sagrada. En este libro, Hipócrates contradice el origen divino de la epilepsia diciendo: “esta enfermedad en mi opinión no es más divina que cualquier otra, ésta tiene la misma naturaleza como otras enfermedades”. También fue el primero en atribuir la etiología de la epilepsia a una disfunción cerebral: “el hecho es que la causa de esta afección como de las enfermedades más graves, generalmente es el cerebro”. También sugirió que la herencia jugaba un rol importante en la enfermedad: “su origen como el de otras enfermedades, se encuentra en la herencia”.

Galeno de Pérgamo (130-200), uno de los médicos más famosos del periodo romano, sistematizó la nosología y describió la epilepsia con exactitud en su tratado *Definiciones Médicas*. Definió la epilepsia como una crisis de la mente y de los sentidos junto con una caída repentina, algunas con convulsiones y, en otras sin éstas.

En América latina, también existen datos sobre las CE. En el código Badiano se encuentran descritas dos formas diferentes de crisis epilépticas:

Huapauzlitli: es una alteración que se caracteriza por quietud y convulsiones.

Hihixcayotl: es una alteración caracterizada por temblores [3].

Las huellas que la condición epiléptica ha dejado por las diferentes culturas son bastas y, no se limita a una región. Los vocablos que se han utilizado para referirse a las crisis son variados, pero la descripción conductual coincide a través de las diferentes civilizaciones.

2 Clasificación de las crisis epilépticas y síndromes epilépticos

Una crisis epiléptica es la ocurrencia transitoria de signos y/o síntomas debidos a la actividad neuronal excesiva anormal o a la sincronización de la actividad neuronal en el encéfalo. Éstas son el resultado de patrones anormales específicos de excitabilidad y sincronización entre neuronas en áreas selectas del cerebro, que usualmente, mas no necesariamente, involucran a la corteza [4].

La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE, por sus siglas en inglés *International League Against Epilepsy*) clasifica las crisis epilépticas en generalizadas y focales (Tabla 1).

Las crisis generalizadas son originadas y rápidamente propagadas en redes neuronales distribuidas bilateralmente. Pueden incluir estructuras corticales y subcorticales, pero no necesariamente abarca toda la corteza. El comienzo de una crisis puede ser localizado, pero

Tabla 1. Clasificación de las crisis epilépticas [5]
Crisis generalizadas Tónico-Clónica (en cualquiera de sus combinaciones) Ausencia Típica Atípica Ausencia con características especiales Ausencia mioclónica Mioclonias palpebral Mioclónica Mioclónica Mioclonia atónica Mioclonia tónica Clónicas Tónicas Atónicas Crisis focales Desconocidas Espasmos epilépticos
<i>Nota:</i> Las crisis que no pueden ser diagnosticadas dentro de una de estas categorías, se deben clasificar hasta contar con más información que permita su diagnóstico exacto.

la localización y lateralización no son consistentes de una crisis a otra. Las crisis generalizadas pueden ser asimétricas.

Las crisis focales están limitadas dentro de redes neuronales pertenecientes a un hemisferio. Pueden ser discretamente localizadas o ampliamente distribuidas. Éstas pueden originarse en estructuras subcorticales. Para cada tipo de crisis, el comienzo ictal es consistente de una crisis a otra [5].

Una crisis no es igual a la condición epiléptica, ya que una CE es transitoria, delimitada en el tiempo, con un comienzo y un final claro, la cual se da como una respuesta natural a una lesión o a la pérdida transitoria de la homeostasis. Mientras que la epilepsia no es una condición, sino una familia diversa de desórdenes, que tienen en común un aumento anormal a la predisposición para desencadenar crisis.

Para el diagnóstico de epilepsia, es necesaria la ocurrencia de una crisis en asociación con una perturbación permanente del cerebro capaz de desencadenar más crisis [4]. Los síndromes epilépticos (SE) se clasifican por la edad de aparición, consecuencias y antecedentes cognoscitivos y del desarrollo, características electroencefalográficas (EEG), factores que desencadenan las crisis y patrones de ocurrencia de las crisis con respecto al sueño (Tabla 2).

Tabla 2. Síndromes Epilépticos [4]

Síndromes electro-clínicos organizados por edad de inicio

Periodo neonatal

Epilepsia neonatal familiar benigna (ENFB)

Encefalopatía mioclónica temprana (EMT)

Síndrome de Ohtahara

Infancia

Epilepsia de la infancia con crisis focales migratorias

Síndrome de West

Epilepsia mioclónica en la infancia (MEI)

Epilepsia infantil benigna

Epilepsia infantil familiar benigna

Síndrome de Dravet

Encefalopatía mioclónica en desórdenes no progresivos

Niñez-Adolescencia

Crisis febriles plus (FS+) (puede comenzar en la infancia)

Síndrome de Panayiotopoulos

Epilepsia con crisis mioclónicas atónicas

Epilepsia benigna con espigas centro-temporales

Epilepsia nocturna del lóbulo frontal autosómica-dominante

Epilepsia occipital infantil de inicio tardío

Epilepsia con ausencias mioclónicas

Síndrome de Gastaut-Lennox

Encefalopatía epiléptica con ondas y espigas continuas durante el sueño

Síndrome de Kleffner-Landau

Epilepsia de ausencia juvenil

Adolescencia-Adulto

Epilepsia de ausencia juvenil

Epilepsia mioclónica juvenil

Epilepsia con crisis tónico clónicas únicas

Epilepsia mioclónica progresiva

Epilepsia predominantemente autosómica con características auditivas

Otras epilepsias familiares del lóbulo temporal

Menos específico con relación a la edad

Epilepsia focal familiar con focos variables

Epilepsia refleja

Constelaciones distintivas

Epilepsia del lóbulo temporal mesial con esclerosis hipocámpal

Síndrome de Rasmussen

Crisis gelásticas con hamartoma hipotalámico

Epilepsia hemipléjica- hemiconvulsiva

Los síndromes epilépticos que no se ajustan a estas

categorías, primero se clasifican por la presencia o ausencia de una estructura o condición metabólica conocida, luego por el modo en el que comienza la crisis (generalizada vs focal)

Epilepsias atribuidas y organizadas por causas metabólicas-estructurales

Malformación del desarrollo cortical (hemimegalocéfalia, heterotopías, etc.)

Síndromes neurocutáneo (complejo de esclerosis tuberosa, Sturge-Weber, etc.)

Tumor

Infección

Trauma

Angioma

Insultos perinatales

Accidente cerebrovascular

Epilepsias de causa desconocida

Condiciones con crisis epilépticas que no son diagnosticadas como una forma de epilepsia en sí

Crisis neonatales benignas

Crisis febriles

3 Etiología de los síndromes epilépticos

Conocer la etiología y fisiopatología de un trastorno o síndrome ofrece información para poder diseñar mejores tratamientos y estrategias de prevención. Berg *et al.* [5], clasificaron en tres categorías la etiología de los SE: genética, la cual se entiende como el resultado de un defecto genético en el que las crisis son el síntoma principal del desorden; estructurales/metabólicas, en la cual existe una condición estructural o metabólica demostrada, que se asocia con un incremento en el riesgo de desarrollar epilepsia; desconocidas, en donde la naturaleza de la causa subyacente de las CE no es del todo clara. Aproximadamente el 62% de personas que padecen epilepsia son por causas de origen desconocido, la tercera parte de la población epiléptica son fármaco-resistentes y sólo el 30% de los afectados con epilepsia refractaria son candidatos a cirugía, también existe un grupo que no es candidato a tratamiento quirúrgico. Lo cual pone de relieve la necesidad de más investigación sobre nuevos métodos para el diagnóstico, tratamiento y prevención de la epilepsia. La investigación en humanos es limitada debido a que muchas de las técnicas utilizadas son invasivas. La alternativa son los modelos animales (ver capítulo 5), los cuales permiten el estudio de los mecanismos neuronales implicados en una CE, así como la evaluación de los tratamientos antiepilépticos.

4 Mecanismos GABAérgicos y glutamatérgicos de la epilepsia

La disminución de la actividad del GABA (ácido gamma-aminobutírico) se vincula, a la aparición de las CE debido al aumento de la excitabilidad causada por el fallo de la inhibición [6]. Existen dos tipos de receptores gabaérgicos: GABA_A (ionotrópico) y GABA_B (metabotrópico). El receptor GABA_A media la inhibición a través de la entrada selectiva de los iones de Cl⁻ y HCO₃⁻. Esto provoca la hiperpolarización intramembranal de la neurona, disminuyendo la probabilidad de que se dispare un potencial de acción [7].

Los receptores GABA_A están estrechamente relacionados con las CE. El bloqueo del receptor GABA_A por PTZ o bicuculina, fármacos que bloquean al receptor GABA_A, generan crisis parciales y/o generalizadas, debido a la falta de entrada de iones negativos que provoquen la hiperpolarización. De igual manera, la inhibición del glutamato descarboxilasa (GAD) provoca actividad paroxística, debido a que la GAD lleva a cabo la separación de un grupo carboxilo, para transformar el Glutamato (Glu) a GABA. Por lo que la disminución de GABA, provoca la sobre-excitación que desemboca en una CE.

El Glu es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central (SNC). Existen seis receptores glutamatérgicos identificados, tres ionotrópicos N-metil-D-aspartato (NMDA), α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), receptor kainato (KA) y tres metabotrópicos (mGluRs). Los receptores ionotrópicos AMPA y KA son selectivos a los iones de Na^+ y K^+ . El N-Metil-D-Aspartato (NMDA) permite el paso de Ca^+ , Na^+ y K^+ . Cuando los iones con carga positiva atraviesan la membrana, el interior se vuelve menos negativo, alcanzando el umbral de disparo. Cuando ocurre un desorden en la neurotransmisión excitadora mediada por Glu, se tiene como consecuencia la aparición de crisis epilépticas. Los modelos químicos de epilepsia y las pruebas con fármacos han permitido el estudio de la implicación del Glu y sus receptores en las CE. Los tres receptores ionotrópicos juegan un papel en la generación de CE. Nadler en 1978, reportó que la administración de ácido kaínico provoca crisis [8], demostrando la participación del receptor KA en la actividad epiléptica. El receptor AMPA media los potenciales post-sinápticos más rápidos de la neurotransmisión glutamatérgica. Los antagonistas selectivos al AMPA tienen un efecto inhibitorio en el desarrollo del kindling amigdalino y bloquea las respuestas mono-sinápticas evocadas en la corteza piriforme y giro dentado [9, 10, 11 12]. La micro-inyección de NMDA en la amígdala produce CE, las cuales pueden ser bloqueadas si se administra un antagonista selectivo del receptor NMDA [13, 14]. El efecto inhibitorio de las drogas bloqueadoras del receptor AMPA indica que las sinapsis mediadas por este receptor juegan un rol importante en la epileptogénesis. Comúnmente se sostiene que el receptor AMPA es crítico para la inducción de las descargas que provocan las crisis, mientras que el receptor NMDA es crítico para inducir las alteraciones sináptica responsables de la permanencia de las crisis.

5 Correlatos electrofisiológicos de las crisis

Desde el descubrimiento del EEG por Hans Berger en 1929, es posible correlacionar la actividad eléctrica del cerebro y algunas manifestaciones conductuales. En particular, para las crisis epilépticas y los síndromes epilépticos el estudio con la técnica del EEG, puede arrojar datos sobre aspectos diagnósticos y fisiopatológicos [15]. Actualmente, la investigación centra su interés en la actividad celular responsable de la actividad interictal y durante las crisis. Representa una herramienta útil para la evaluación pre-quirúrgica en epilepsias resistentes al tratamiento farmacológico [16]. Los estudios electrofisiológicos, tanto en modelos animales

como utilizando tejido humano *in vitro*, se han dirigido para entender cómo la actividad eléctrica de una neurona o un grupo de neuronas da inicio a la generación de crisis, observar la relación entre las postdescargas en el EEG y los cambios en el potencial transmembrana, sobre todo, la suma de potenciales postsinápticos excitatorios e inhibitorios. Cada neurona durante la actividad interictal y durante las crisis presenta una despolarización extrema y limitada en el tiempo conocida como descarga paroxística despolarizante (DPD), característica esencial del foco epileptógeno [17]. La DPD es una despolarización sostenida de aproximadamente 20-40 mV y de larga duración entre 50-200 ms, que dispara un tren de potenciales de acción en el pico máximo del DPD seguido de un post-potencial hiperpolarizante [18] (Figura 1).

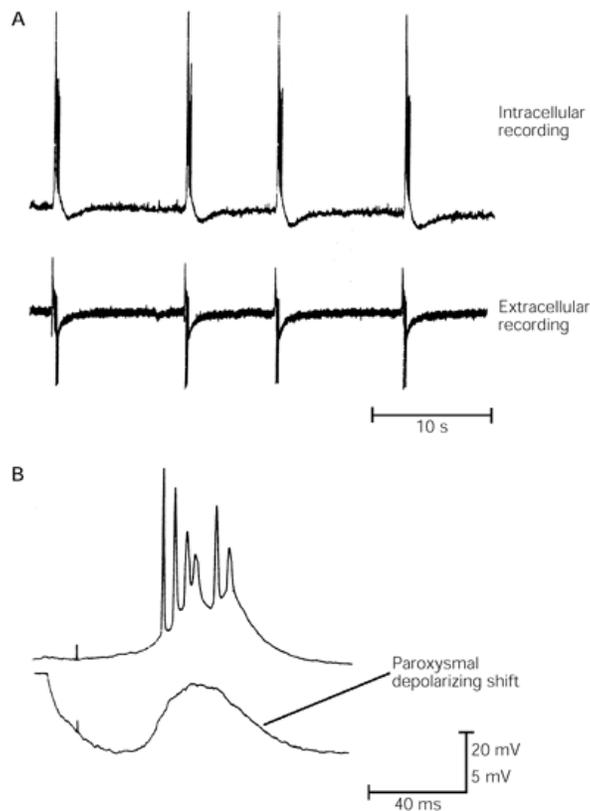


Figura 1. **A.** Las descargas rítmicas están presentes en el registro intracelular de un neurona piramidal normal del hipocampo (parte superior). La descarga de varias neuronas se manifiesta como espiga interictal sincrónica registrado por un electrodo extracelular (parte inferior). **B.** La rodaja del cerebro es perfundida con bicuculina, que bloquea la inhibición mediada por ácido gamma-aminobutírico ($GABA_A$). Una neurona piramidal del hipocampo es despolarizada y dispara varios potenciales de acción superpuestos (parte superior). La inyección de corriente hiperpolariza la membrana y previene el disparo de potenciales de acción revelado con una descarga paroxística despolarizante larga característica de neuronas en un foco epileptógeno (parte inferior) [18].

Se ha tratado de explicar la DPD en el hipocampo y en el neocórtex, bajo dos perspectivas aparentemente contrastantes. Una considera a la DPD como una suma de potenciales postsinápticos excitatorios de un grupo neuronal el cual aumenta la excitación y/o disminuye la inhibición en el foco [19, 20, 21]; alternativamente, es considerada como el resultado de las propiedades intrínsecas de las neuronas [22, 23]. Estas hipótesis no son mutuamente excluyentes, ambos factores contribuyen a la hiperpolarización de la DPD. Por otro lado, se ha sugerido un papel activo de los potenciales mediados por GABA_A en el mantenimiento y terminación de esta actividad epileptiforme prolongada [24].

La localización de la espiga interictal ayuda siempre a ubicar la región cerebral donde se originan las crisis, esta zona es el sitio del cual parte la propagación de la actividad eléctrica sincrónica anormal, que puede o no transmitirse a todo el SNC [25]. La propagación de un foco epiléptico se evalúa mediante la presencia o ausencia de espigas en los diferentes sitios cerebrales. Esta observación determina la clasificación de las crisis en parciales o generalizadas. Es decir, si existe propagación o no de la actividad interictal sincrónica hacia todo el SCN [26]. Electrofisiológicamente la espiga interictal es el indicador más eficaz para poder ubicar espacialmente un foco, así como para analizar su propagación y difusión por el SNC, su frecuencia y voltaje también se asocia con la gravedad de la epilepsia [27].

6 Estado epiléptico

El estado epiléptico (EE) es definido por la ILAE, como una crisis, que persiste por un tiempo suficientemente largo, o crisis continuas, sin recuperación de la conciencia entre crisis [28]. Sin embargo, la definición propuesta por la ILAE para el EE no define un rango de tiempo para considerar cuando un paciente ha caído en EE.

Algunos investigadores consideran 30 minutos de CE sin recuperación de la conciencia, para el diagnóstico de EE [29, 30]. Otros consideran cinco minutos de duración de una CE, o más, para el diagnóstico de EE [31, 32].

Existe controversia en como clasificar los diferentes tipos de EE. En el presente trabajo adoptamos la propuesta hecha por Trinka *et al.* [33]. En donde clasifican los EE, utilizando dos criterios taxonómicos: la presencia o ausencia de síntomas motores, y la pérdida o retención de la conciencia. Por lo tanto se pueden distinguir EE con síntomas prominentemente motores, y EE

sin síntomas prominentemente motores. Los EE no motores pueden ocurrir con o sin coma. Una tercera categoría comprende los límites de los síndromes (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de Estados epilépticos [33]
Con síntomas prominentemente motores
Estado epiléptico convulsivo (tónico-clónico)
Estado epiléptico mioclónico (prominentemente de sacudidas mioclónicas)
Estado epiléptico focal (incluyendo epilepsia parcial continua de Kojevnikov)
Estado epiléptico tónico
Estado epiléptico hipercinético
Sin síntomas prominentemente motores
Estado epiléptico no convulsivo con coma
Estado epiléptico no convulsivo sin coma
Generalizado
Focal
Límite de los síndromes
Encefalopatía epiléptica
Formas agudas de coma con patrones EEG como de estado epiléptico
Alteración del comportamiento epiléptico y psicosis
Estado confuso, o delirio con cambios EEG epileptiformes.

6.1. Muerte súbita inesperada por epilepsia (SUDEP)

La muerte súbita inesperada por epilepsia o SUDEP (por sus siglas en inglés *sudden unexpected death in Epilepsy*) es uno de los factores más comunes de muerte en personas con síndromes epilépticos. El índice de mortandad de los pacientes epilépticos es de 3.5 a 9.3 por cada 1000 pacientes con tratamiento farmacológico, dispositivos médicos y con cirugía [34, 35]. En 1993, el departamento de Estados Unidos de América que controla la administración de medicamentos (FDA, Food and Drugs Administration por sus siglas en inglés) y la empresa Wellcome establecieron un comité asesor para desarrollar los criterios del SUDEP en los ensayos clínicos y el uso compasivo de lamotrigina. En la actualidad se admiten los siguientes criterios:

- Las víctimas deben ser epilépticos, definiendo la epilepsia como la ocurrencia de crisis no provocadas.
- La muerte se produce inesperadamente, teniendo la persona un estado de salud razonable.
- La muerte ocurre bruscamente, en minutos, cuando se conoce.
- La muerte ocurre cuando el sujeto realiza una actividad normal y en circunstancias normales.
- No debe encontrarse ninguna causa del fallecimiento desde el punto de vista médico.
- La muerte no puede ser la causa directa de una crisis o de un EE.

Estos criterios excluyen las muertes accidentales secundarias a las crisis epilépticas, pero incluyen aquellas con o sin evidencia de una crisis cercana al tiempo de muerte [35].

6.2 Mecanismos del SUDEP

Durante una CE, se dan cambios autonómicos los cuales pueden ser la razón del SUDEP (figura 2). La apnea central, el edema pulmonar agudo neurogénico y la hipoxemia, son las principales causas de muerte propuestas para explicar el SUDEP. En un estudio prospectivo con pacientes epilépticos monitoreados con EEG, se registraron apneas post-ictales, con una duración promedio de 10 segundos en el 40% de las crisis registradas [36]. También se ha reportado que pacientes epilépticos jóvenes desarrollan apnea central inmediatamente después de una crisis parcial compleja [37].

El edema pulmonar agudo neurogénico, es encontrado frecuentemente en estudios post-mortem de pacientes epilépticos [38]. Una intensa vasoconstricción generalizada inducida por una crisis generalizada, el cual implica al sistema simpático, puede conducir al incremento de la resistencia vascular pulmonar, y quizás esto puede mediar el edema pulmonar agudo [39].

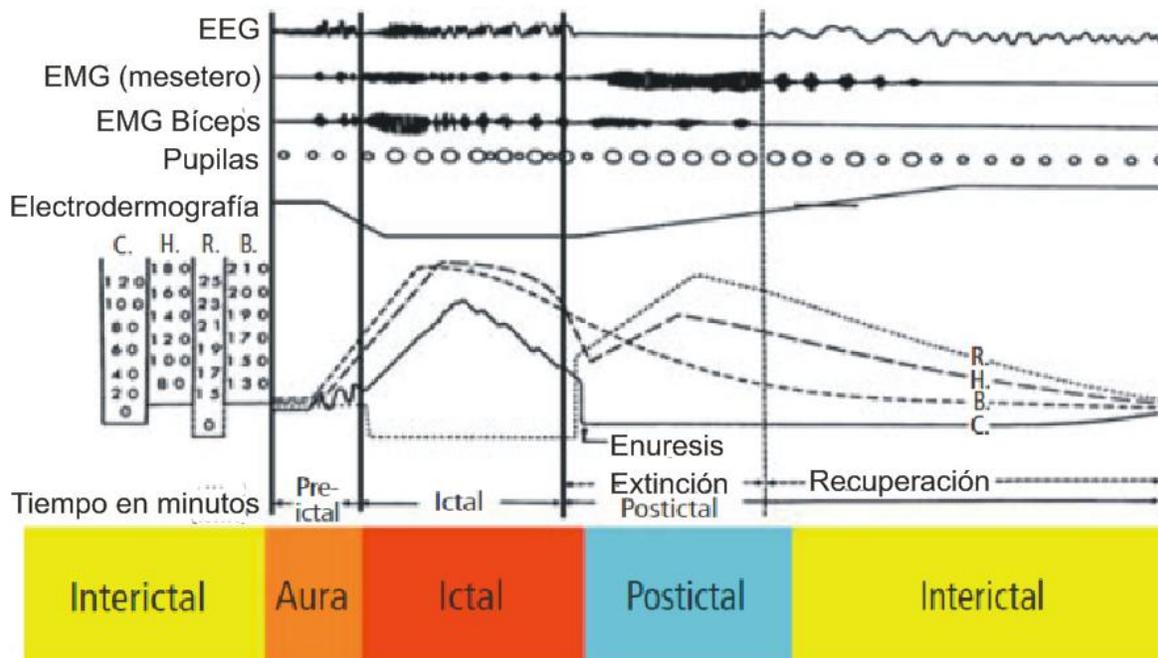


Figura 2. Cambios autonómicos durante una crisis epiléptica generalizada. Incremento de la frecuencia cardíaca (H) y presión sanguínea, (B) corresponde a la disminución de la frecuencia respiratoria durante la fase ictal. Los cambios autonómicos continúan después de terminada la CE. C= cistografía [44].

Otras causas de muerte relacionadas con el SUDEP son las patologías cardíacas, como la arritmia cardíaca, desencadenada por descargas producidas por las CE y mediadas por el sistema autónomo [40, 41]. Los cambios en el ritmo cardíaco incluyen taquicardias y bradicardias, estos cambios pueden ser inducidos por estimulación eléctrica del sistema límbico y de la corteza insular [40, 42], estructuras que están íntimamente relacionadas con las CE por ser altamente excitables. Se ha reportado que el 42% de los pacientes hospitalizados a consecuencia de CE, presentan arritmias cardíacas [40]. En otro estudio en el que se analizó el ritmo cardíaco, se reportaron arritmias en el 49% de las CE. Las arritmias reportadas fueron: asistolia ictal, fibrilación auricular, anormalidades en la repolarización y bloqueo de rama o fascículo [43].

7 Tratamientos para el control de la Epilepsia

7.1 Tratamientos farmacológicos

El comienzo de la farmacoterapia para la epilepsia se remonta a la segunda mitad del siglo XIX cuando los bromuros fueron utilizados como agentes anti-convulsionantes muy eficaces, pero tóxicos. Éstos fueron sustituidos con la llegada de la primera droga antiepiléptica sintética, el fenobarbital. Este fármaco fue efectivo en el tratamiento de crisis tónicas, y con una menor toxicidad que los bromuros. Hasta 1965 las drogas antiepilépticas eran compuestos derivados del fenobarbital, como el mefobarbital y la primidona. De 1965 a la actualidad se han diseñado nuevos fármacos con fórmulas químicas distintas.

Los fármacos tradicionales y de nueva generación actúan sobre los mecanismos que regulan la entrada y salida de los iones Na^+ , K^+ , Cl^- y Ca^{2+} controlando la excitación e inhibición neuronal. Otros medicamentos aumentan los niveles de GABA fomentando la inhibición. También hay fármacos como el Talampanel los cuales bloquean la liberación de glutamato, lo que conlleva a una disminución en la excitación [45] (Tabla 4).

7.2 Neurocirugía de la epilepsia

La primera intervención quirúrgica para la epilepsia se realizó en Londres en 1879 por William Macewen y Víctor Horsley. Desde entonces, los procedimientos quirúrgicos se han convertido en una alternativa para el tratamiento de la epilepsia fármaco-resistente. El objetivo de la cirugía es la remoción del foco epileptogénico o la interrupción de la conexión entre el foco y el resto del encéfalo, la resección o desconexión del foco conduce al cese de las crisis. El foco epiléptico es

el área de la corteza que es indispensable para la generalización de las CE y es la zona más propensa a desencadenar las CE [46].

La cirugía es el tratamiento más efectivo en los casos de epilepsia del lóbulo temporal, donde la remisión es de un año o más, en el 60% de los casos comparado con el 8% de los tratados con fármacos [47]. En los casos de epilepsia del lóbulo frontal y áreas neo-corticales es menos efectiva [48].

Tabla 4: Mecanismo de acción de las drogas antiepilépticas [45]

Fármaco	Aumenta GABA	Afinidad a GABA _A	Bloquea canales de Na ⁺	Bloquea canales de Ca ⁺	Inhibidor de Glu	Activa los canales de K ⁺	Otros
Benzodiacepinas		+					
Carbamazepina			+	+(tipo L)			+
Etosuximida				+(tipo T)			
Fenobarbital	+	+	+		+		+
Fenitoína			+				+
Valproato	+			+(tipo T)			+
Felbamato	+	+	+	(tipo L)	+		+
Gabapentina				+(N-, tipo P/Q)			
Lamotrigina	+		+	+(tipo N, P/Q, R, T)	+	+	
Levetiracetam		+		+(tipo N)			+
Oxcarbazepina			+	+(tipo N y P)			+
Tiagabina	+						
Topiramato	+	+	+		+		+
Vigabatrina	+			+(tipo L)			
Zonisamida			+		+		+
Bivaracetam				+(tipo N, P, T)			+
Carabersat							+
Carisbamate							+
Eslicarbazepina			+				
Ganaxolone		+					
Lacosamida			+				
Pregabalina							
Retiagabine	+	+		+(tipo N, P/Q)		+(Kv7.2-7.5)	
Stiripentol	+	+					
Talampanel					+		

Antes de que un paciente con epilepsia sea sometido a cirugía debe de ser evaluado. El primer paso en el examen pre-quirúrgico es la selección de los pacientes. Hay varios criterios para decidir que pacientes pueden someterse a las pruebas pre-quirúrgicas. Los pacientes que han sido diagnosticados con epilepsia focal. Pacientes que no han respondido a la farmacoterapia. Que no presenten ninguna complicación a la cirugía. Finalmente, el paciente debe de dar su consentimiento para ser evaluado. El segundo paso es el monitoreo EEG, para confirmar el diagnóstico, ya que entre el 20 y 30% de pacientes referidos con epilepsia refractaria han sido

mal diagnosticados. El monitoreo EEG también determina si un paciente tiene epilepsia focal y ayuda a identificar entre el comienzo temporal vs extratemporal de las crisis. Aparte del EEG, se realiza una resonancia magnética (MRI, por sus siglas en inglés magnetic resonance imagin). La MRI ayuda a detectar lesiones como la esclerosis hipocampal. Después de realizar el EEG y MRI, el resto de la evaluación pre-quirúrgica consiste en la aplicación de técnicas de neuroimagen funcional, pruebas neuropsicológicas y la aplicación del test de WADA [49, 46, 50].

El tratamiento quirúrgico se puede dividir en dos categorías, con base en el objetivo del procedimiento. El primer procedimiento tiene como objetivo el control de las CE o su cura. Mientras que la finalidad del segundo tipo de cirugía es la disminución de la frecuencia y severidad de las CE (Tabla 5).

7.3 Estimulación magnética transcraneal

La estimulación magnética transcraneal (EMT), fue introducida por Barker en 1985. Consiste en la aplicación de corriente de gran intensidad y corta duración a través de una bobina de cobre, ubicada cerca del cuero cabelludo, la cual induce un campo magnético transiente en el plano ortogonal a la bobina. El campo magnético atraviesa el cuero cabelludo y la calota, sin atenuación significativa, e induce una corriente eléctrica, de mucha menor intensidad, a nivel de la corteza. Las variables en la EMT son: frecuencia de estimulación, intensidad del campo magnético, forma y orientación de la bobina de estimulación y sitio de estimulación.

Dependiendo de la frecuencia de estimulación, se puede hablar de EMT simple, pareada o repetida (EMTr). En la EMT simple se produce un pulso inferior a 1 Hz en un momento y duración determinada. La EMT de pulsos apareados, implica pulsos producidos a intervalos variables en la misma zona o diferentes áreas del cerebro. En la EMTr se aplican trenes de pulsos de hasta 50 Hz. Sin embargo la EMTr se puede dividir en estimulación de baja y alta frecuencia [51].

La estimulación de EMTr de baja frecuencia (≤ 1 Hz) disminuye la excitabilidad cortical más allá de la duración del estímulo. Mientras que la estimulación de alta frecuencia (≥ 10 Hz) incrementa la excitabilidad cortical, por lo que la EMTr ha sido utilizada para el tratamiento de varios padecimientos neurológicos entre los que se encuentra la epilepsia [52]. Se ha reportado que la EMTr de baja frecuencia reduce entre 50 y 70% la frecuencia de las crisis [53, 54, 55]. Los parámetros de estimulación para tratar la epilepsia van de 0.3 a 1 Hz.

Tabla 5. Tratamientos quirúrgicos

Tipo de cirugía	Indicaciones	Características
Procedimientos para controlar o curar		
Lesionectomía	Se realiza en los casos de lesiones corticales causantes de CE, como tumores, malformaciones vasculares, gliosis y malformaciones corticales con localización en lóbulos frontales, parietales y occipitales.	Se realiza una craneotomía estándar pero limitada al sitio donde se localiza la lesión epileptogénica. Una vez expuesta el área del foco se procede a lesionar el sitio causante de las CE para después extraerlo.
Resección del lóbulo temporal	Se lleva a cabo en lesiones patológicas confinadas en el lóbulo temporal, las cuales son resultado del foco epiléptico, éstas pueden ser neoplasias y esclerosis mesial temporal.	La estrategia quirúrgica depende de la localización de la lesión. Sólo se retira la zona lesionada. Si la lesión es difusa se procede a una lobectomía temporal completa.
Lobectomía	Este procedimiento se realiza en lesiones difusas localizadas en un mismo lóbulo. La lobectomía se reserva para casos en donde los beneficios de la cirugía superan los déficits neurológicos producidos como consecuencia de la resección.	Se realiza una craneotomía estándar en el lóbulo afectado y se procede con la resección del lóbulo.
Resección del tercer ventrículo	Se procede a la resección del tercer ventrículo en los casos de crisis gelásticas producto de un hamartoma hipotalámico.	Estas lesiones se realizan con un endoscopio, a través de un acceso frontal, pasando por el ventrículo lateral para desconectar el hamartoma del hipotálamo.
Hemisferectomía	Los desórdenes que se suelen tratar con hemisferectomía son las encefalitis de Rasmussen y malformaciones del desarrollo cortical.	Se hace una incisión frontoparietalooccipital en forma de T a través de la línea media, la cual es utilizada para realizar una craneotomía. Se expone la fisura de Silvio, se aísla la carótida, la arteria cerebral anterior y arteria cerebral media. Una vez aisladas la arteria cerebral media y anterior son cortadas. El cuerpo calloso es dividido de la rodilla hasta las comisuras hipocampales. Después el lóbulo frontal, parietal, temporal y occipital es removido.
Procedimientos Paliativos		
Resección subpial múltiple	Se realiza cuando el foco epiléptico se localiza en un área de la corteza que no se puede remover debido a la función que desempeña, como la corteza motora primaria y áreas sensoriales. Usualmente se lleva a cabo en el síndrome de Landau-Kleffner.	Se interrumpen las conexiones horizontales de la corteza cerebral implicada en las CE, sin remover el área.
Callosotomía	Se lleva a cabo en epilepsias en donde el foco no puede ser localizado, frecuentemente se realiza en epilepsias del lóbulo frontal	Se realiza una craneotomía frontoparietal sobre la línea media, una vez expuesta la masa encefálica se divide el cuerpo calloso desde la rodilla hasta la comisura hipocampal posterior.

Se ha reportado que la EMTr puede causar crisis epilépticas durante la sesión o momentos después de terminada la terapia [56, 57, 58, 59], sin embargo, la probabilidad de padecer una crisis como consecuencia de la EMTr se calcula entre el 0.41 ± 0.08 por cada 1000 estimulaciones, lo cual hace de la EMTr una buena alternativa para tratar la epilepsia.

7.4 Estimulación eléctrica del sistema nervioso

La estimulación eléctrica del sistema nervioso se clasifica en dos categorías: 1) estimulación eléctrica del sistema nervioso central que a la vez se clasifica en directa: dirigida al sitio donde se localiza el foco epiléptico, e indirecta: dirigida a sitios involucrados con la neuromodulación, como el tálamo (anterior o centro-medial), ganglios basales y núcleos sub-talámicos y caudados. 2) Estimulación eléctrica del sistema nervioso periférico: estimulación del nervio vago, estimulación del nervio trigémino y estimulación del nervio glosofaríngeo [60].

7.4.1 Estimulación eléctrica directa

La estimulación eléctrica directa se comenzó a utilizar en 1930, como método de mapeo para las funciones corticales. Esta técnica también es empleada por neurocirujanos, para localizar las áreas implicadas en las crisis epilépticas, para su remoción [61]. El mapeo pre-quirúrgico consiste en la colocación sub-dural de una red de electrodos, por la cual se aplica un estímulo de 3 a 8 segundos, de pulsos de onda cuadrada bifásica bipolar (ancho de pulso 0.3 ms/50-60 Hz). Se comienza con una intensidad baja (1 mA) incrementándose de 0.5-1 mA, hasta un máximo de 15 mA o hasta obtener una post-descarga (PD). Un pulso bifásico de 0.3 ms a 50 Hz reduce o para la PD producida por el estímulo aplicado para localizar el foco epiléptico. Con lo cual se soporta la idea, de que un estímulo eléctrico aplicado de la manera correcta, en el comienzo de una crisis, puede parar las crisis epilépticas en humanos [61].

Estudios realizados en pacientes con epilepsia fármaco-resistente, se reporta que cuando el estímulo se aplica en el pico negativo de la PD y en áreas aledañas al foco, las probabilidades de parar la PD, son entre el 50 y 70 % [62, 63].

Los parámetros de estimulación varían dependiendo de la respuesta del paciente. El estímulo puede ser sub-umbral o supra-umbral, a baja frecuencia (< 1 Hz) o alta frecuencia (> 50 Hz). Éste puede darse milisegundos después de manifestada la actividad ictal, o sin necesidad de presentar actividad ictal [60].

7.4.2 Estimulación eléctrica indirecta

La estimulación eléctrica indirecta es una alternativa prometedora para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, temblor y distonía, aprobada por la FDA de los estados unidos. Esta técnica consiste en la implantación estereotáctica de electrodos dirigidos a núcleos que modulan la actividad del sistema nervioso, conectados de forma permanente a un neuroestimulador que se implanta en la zona infraclavicular o infrabdominal [64].

Velasco et al., [65] probaron la estimulación eléctrica de la corteza cerebelosa, en pacientes con epilepsia refractaria. Observaron una reducción de las crisis generalizadas tónico-clónicas (CGTC) del 33% durante los primeros dos meses de tratamiento y del 41% a los seis meses de estimulación.

Se ha reportado que la estimulación de los núcleos sub-talámicos reduce entre el 30 y el 100% la frecuencia de las crisis de pacientes con epilepsia bilateral frontal, displasia cortical focal con epilepsia y en la epilepsia mioclónica en edad adulta. Sin embargo, no en todos los síndromes epilépticos es eficaz, como en el caso del síndrome de Dravet [66, 67, 68].

El núcleo centro-medial del tálamo (NCMT) también ha sido ensayado en humanos, para el control de la epilepsia resistente. Fisher et al. [69], estimularon el NCMT en siete pacientes fármaco-resistentes, obteniendo una reducción del 30% en la frecuencia de las CGTC. La estimulación de NCMT también es efectiva para el tratamiento del síndrome de Lennox-Gastaut, ya que disminuye la frecuencia de las crisis en un 80% [69].

La estimulación eléctrica del núcleo anterior del tálamo (EENAT) ha sido probada en diferentes tipos de crisis y síndromes epilépticos (parciales complejas, parciales secundariamente generalizadas, tónico-clónicas generalizadas, heterogéneas, epilepsia del lóbulo temporal mesial y síndrome de Dravet). Su eficacia es de entre el 50 y 80%, en la disminución de la frecuencia de las crisis [70, 71, 72, 73, 74]. Fisher et al. [75], realizaron un estudio, en donde utilizaron 110 pacientes con crisis parciales refractarias, incluyendo generalización secundaria. La EENAT redujo la frecuencia de las crisis en un 29% durante los primeros tres meses. A los dos años el promedio fue del 56%. Las complicaciones reportadas en los tratamientos de estimulación eléctrica para el tratamiento de las crisis epilépticas son problemas de memoria o depresión, sin que lleguen a ser considerables.

7.5 Estimulación eléctrica del nervio trigémino

El nervio trigémino (NT) es el quinto par craneal, éste contiene fibras motoras y sensitivas, las cuales proporcionan información somatosensorial de las dos terceras partes de la cara, mediante tres ramas sensoriales bilaterales sobre el rostro (oftálmica, maxilar y mandibular). El NT tiene cuatro grupos nucleares: núcleo sensitivo principal, núcleo espinal, núcleo mesencefálico y núcleo motor, contenidos en el tallo cerebral.

En 1976 Maksimow fue el primero en reportar la eficacia de la estimulación del nervio trigémino para abolir las CGTC. La estimulación consistía en aplicar presión manual en la rama oftálmica del trigémino. La estimulación fue aplicada en 50 pacientes, de los cuales en 29 de ellos hubo efecto sobre las CGTC. La estimulación fue eficaz cuando se aplicaba en el instante que los pacientes sentían venir la CGTC, pero fue ineficaz cuando era aplicada durante la CGTC [76].

La estimulación eléctrica del trigémino ha sido ensayada en pacientes con epilepsia fármaco resistente. La reducción en la frecuencia de las crisis es del 60% a los tres meses de tratamiento, y hasta del 90% con doce meses de estimulación. La estimulación es bilateral y se lleva a cabo en la rama oftálmica del trigémino. Los efectos secundarios reportados son: irritación en la piel, hormigueo y dolor de cabeza [77, 78, 79].

7.6 Estimulación eléctrica del nervio glossofaríngeo

El nervio glossofaríngeo (NG) es el noveno par craneal, éste es un nervio mixto (sensitivo, motor y vegetativo). Este nervio participa en el reflejo de deglución, sensibilidad de las mucosas del oído medio y de la trompa auditiva, transmite la sensación gustativa nacida de las papilas posteriores de la lengua y por medio de sus fibras parasimpáticas es el nervio secretor de la glándula parótida. Las fibras provenientes del oído externo, cavidad timpánica, trompa auditiva, tercio posterior de la lengua y la faringe media, llegan al núcleo espinal del nervio trigémino. Las aferencias viscerales del NG llegan al tercio medio del NTS. Las fibras que conducen la sensación del gusto llegan a la porción rostral del NTS.

La estimulación eléctrica del nervio glossofaríngeo (EENG) se ha probado para el control de las CE en modelos animales, con resultados favorables, ya que la EENG logró disminuir el 72% de las CGTC inducidas por penicilina [80]. La estimulación sólo es efectiva cuando el sistema dopaminérgico de la amígdala se encuentra intacto [81]. Por otra parte, la EENG aumenta la actividad neuronal de la corteza temporal mesial y corteza insular [82], estructuras que tienen un papel importante en la epileptogénesis. En un estudio realizado con humanos, para determinar la

accesibilidad del NG para colocar un electrodo de estimulación, reveló que es posible implantar un electrodo de estimulación en el NG. Realizando una incisión por debajo del ángulo mandibular, para acceder a la carótida interna, a la altura de la bifurcación carotídea y vena facial común [83].

7.7 Estimulación eléctrica del nervio vago

El nervio vago (NV) o neumogástrico es un nervio mixto (motor y sensitivo), ocupa el décimo lugar de los pares craneales. Sus fibras se originan en tres grupos nucleares: núcleo motor principal (ambiguo), núcleo parasimpático (motor dorsal del vago) y núcleo sensitivo (núcleo del tracto solitario). El NV abandona el tronco encefálico en su aspecto anterolateral como una serie de raíces, en un surco entre la oliva y el pedúnculo cerebeloso inferior, luego deja la cavidad craneal a través del foramen yugular. El NV inerva la faringe, esófago, laringe, la tráquea, bronquios, corazón, estómago, páncreas, hígado y vísceras que irriga la arteria mesentérica superior.

La estimulación eléctrica del nervio vago (EENV) induce una disminución en la actividad motora y desincronización en la actividad EEG de la corteza [84, 85]. Efectos contrarios a la actividad epileptogénica.

Los primeros datos de la eficacia de la EENV, para controlar las crisis epilépticas fueron obtenidos mediante experimentos en modelos animales de epilepsia, en los cuales se reportó que la EENV reduce la aparición de espigas epileptiformes de un foco epiléptico producido por la aplicación tópica de estriknina e interrumpe las crisis inducidas por PTZ o estriknina en perros [86, 87].

En 1994 Ben-Menachem et al., probaron la EENV en pacientes con epilepsia refractaria, obteniendo una reducción de la frecuencia de las crisis del 50% [88]. En 1997, la EENV fue aprobada por la FDA como tratamiento para la epilepsia refractaria. Desde el primer implante en 1988 hasta el 2011, alrededor de 60,000 pacientes han sido implantados [89].

8 Modelos experimentales de epilepsia

La epilepsia es un síndrome el cual no tiene cura, pero es controlable mediante la medicación y tratamientos quirúrgicos, sin embargo hay pacientes epilépticos que no responden a los tratamientos disponibles para la epilepsia, por lo que surge la necesidad de indagar los mecanismos generadores que subyacen a la epilepsia, de esta manera se puede contar con elementos para nuevos tratamientos.

El uso de animales de laboratorio en la investigación de las ciencias biológicas representa un elemento fundamental en el desarrollo de avances en la prevención, diagnóstico y tratamiento de los desórdenes neurológicos y psiquiátricos, así como la comprensión del funcionamiento de la maquinaria biológica.

Los síndromes epilépticos pueden ser fielmente reproducidos en animales, como la rata albina, ratones, gatos y chimpancé. Por medio de la administración de fármacos (modelos químicos), estimulación eléctrica de diferentes estructuras encefálicas (kindling) y también existen modelos genéticos de epilepsia en animales, los cuales padecen crisis de manera natural. Un modelo ideal para la generación de crisis epilépticas debe cumplir con las siguientes características [90, 91]:

- a) Las anomalías EEG inducidas por la manipulación experimental deben ser similares a las observadas en EEG humanos.
- b) Las CE presentadas en el modelo animal deben ocurrir espontáneamente por meses o años después de producido el foco experimental.
- c) Las características electrofisiológicas de unidades aisladas observadas en la epilepsia experimental deben ser similares a las reportadas en neuronas de focos epilépticos en humanos.
- d) Desde el punto de vista morfológico, debe existir control experimental preciso del área nerviosa utilizada, así como el tamaño de las lesiones epileptogénicas.
- e) Control experimental adecuado de la cronología del desarrollo de las crisis.
- f) Precipitación segura de las CE mediante una manipulación experimental identificable y reproducible.
- g) El modelo utilizado debe llenar los criterios anteriores con la utilización de preparaciones poco costosas.

8.1 Kindling

El papel del sistema límbico, en especial la amígdala, en la conducta emocional fue un tema de ardua investigación en las décadas de los 40 y 50, para lo cual se utilizó la inducción de corriente galvánica. En 1952 Gastaut et al., implantaron electrodos en el complejo amigdalino para su estimulación eléctrica. Encontraron que la estimulación eléctrica de la amígdala evocaba respuestas somáticas y autonómicas: actividad oral, conducta ofensiva y defensiva [92]. Alonso de Florida y Delgado [93], observaron que la estimulación eléctrica de la amígdala producía respuestas somatomotoras y autonómicas. Lo más común fue el movimiento ipsilateral sincrónico de los músculos faciales: guiño, caída de la oreja, retracción de la boca, movimientos rítmicos del labio superior y actividad de la nariz como si olfateara. Los efectos autonómicos consistieron en dilatación pupilar y piloerección.

En 1961, Delgado y Sevillano reportaron que la estimulación eléctrica repetida en el hipocampo exacerbaba las crisis. Las primeras 14 estimulaciones provocaron detenimiento súbito y movimiento de las vibrisas; a los 38 estímulos la conducta abarcó detenimiento súbito movimiento de vibrisas y movimientos faciales sincrónicos ipsilaterales, con 48 estímulos aparecieron guiños, movimientos rítmicos de la cabeza, salivación y lengüeteo; a las 86 estimulaciones se sumó la pérdida de postura, saltos y efectos motores generalizados. También observaron que la ablación de áreas motoras no afecta los patrones EEG o clínicos. Por último, encontraron que la aparición de espigas en la amígdala se correlaciona con la aparición de los movimientos faciales y que la destrucción de la amígdala los hace desaparecer [94].

En 1969, Goddard estimuló varias zonas del encéfalo en distintas especies, con diferentes parámetros de estimulación eléctrica. Observó que la estimulación eléctrica repetida y de baja intensidad aplicada en las estructuras que conforman al sistema límbico, principalmente la amígdala, causa alteraciones permanentes que resultan en convulsiones generalizadas, a lo cual llamó kindling. El protocolo apropiado para el desarrollo del kindling, fue la aplicación de un tren de 1 segundo de duración a 60 Hz con una intensidad de alrededor de 50 μ A aplicado una vez cada 24 hrs [95]. Desde entonces el kindling ha sido utilizado como modelo de la epilepsia del lóbulo temporal mesial y de epileptogénesis [96].

En humanos las manifestaciones clínicas de las CE involucran una variedad de fenómenos, dependiendo del origen y severidad de las crisis (focal *vs* generalizada) y de las estructuras cerebrales involucradas. Durante una CE puede haber pérdida de la conciencia, automatismos,

sensaciones (visuales, olfativas, auditivas, sensoriales o gustativas). Los eventos motores pueden consistir en movimientos rítmicos incontrolados de la cara y extremidades.

En los modelos animales las manifestaciones conductuales de las CE se correlacionan con las manifestaciones conductuales de las CE en humanos. La severidad de una CE, producida por kindling, se evalúa utilizando la siguiente escala [97, 98]:

Estadio 1: movimientos faciales y masticaciones

Estadio 2: movimientos de verticales con la cabeza

Estadio 3: movimientos clónicos de la extremidad anterior contralateral

Estadio 4: movimientos clónicos de los dos miembros anteriores con postura de canguro

Estadio 5: postura de canguro seguida de pérdida de la postura

Estadio 6: corrida y saltos salvajes

Estadio 7: postura tónica

Estadio 8: crisis espontáneas

Los estadios del 6 al 8 ocurren después de 200 estimulaciones.

8.2 Modelos genéticos

Por definición de epilepsia, los animales con crisis crónicas, espontáneas y recurrentes, representan los mejores modelos de epilepsia humana. Hay cepas de animales con una susceptibilidad innata para padecer CE, como los son las GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg), o WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo/Rij rat) estos animales padecen crisis de ausencia espontáneas, las cuales se correlacionan con actividad EEG espiga-onda a 7-11 Hz, con característica clínicas similares a las crisis de ausencia en humanos adultos [99, 100].

Hay animales que padecen de CE reflejas, como el mandril de la especie *Papio papio*, éste padece CE por causa de la estimulación fótica de 20-30 Hz. La respuesta fotoparoxística indica un rasgo genético subyacente de herencia multifactorial, con expresión dependiente de la edad. Uno de los genes que podría intervenir es el codificador de la sub-unidad 1^a del canal de sodio (SCN1A), cuya mutación causa la epilepsia mioclónica infantil, ya que estos pacientes presentan respuesta fotoparoxística en el 90% de los casos [101].

Otros expresan actividad convulsiva mediante la manipulación genética, la cual consiste en la inactivación de un gen (*knock-out*) conocido por su intervención en la excitabilidad neuronal. La mayoría de estos genes codifican subunidades proteínicas que forman parte de la estructura o función de los canales iónicos. La manipulación genética también puede consistir en la

introducción de un gen en el cromosoma (*knock-in*), el cual esté involucrado con la actividad epiléptica. Estos modelos permiten estudiar el papel que desempeñan los genes en los síndromes epilépticos, así como la evaluación de fármacos anti-epilépticos.

Las mutaciones causantes de CE en ratas comparten dos características con las CE en humanos: 1) estas mutaciones pueden surgir espontáneamente. 2) en cada caso la alteración de un sólo gen es suficiente para desencadenar las CE [102].

8.3 Modelos químicos

Los modelos químicos de de CE se logran mediante la administración de fármacos los cuales pueden actuar bloqueando los mecanismos de la inhibición o aumentando la excitación.

Las drogas que bloquean la acción del GABA o de unos de sus receptores, son utilizados para provocar CE en animales. Estos actúan bloqueando uno de los receptores a GABA, o la síntesis de GABA. Por ejemplo el PTZ, originalmente un cardio-estimulante utilizado para tratar arritmias, es un fármaco convulsionante que ha sido utilizado para producir crisis de ausencia, CGTC y EE en ratas, ratones y monos. El PTZ induce los cuatro fenómenos conductuales, dependiendo de la dosis administrada: con dosis de 20 mg/kg de PTZ se generan crisis de ausencia caracterizada por inmovilidad, parpadeos mioclónicos y actividad EEG de punta-onda (figura 3), dosis de 40 mg/kg de PTZ generan crisis clónicas y CGTC y con una dosis de 70-90 mg/kg se generan CGTC y EE [103].

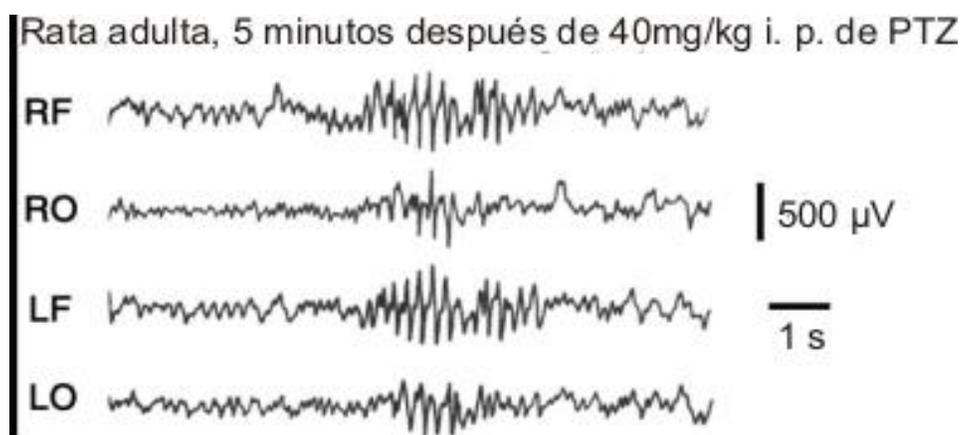


Figura 3. Descarga punta onda, producida por una dosis baja de PTZ en una rata Wistar. Esta descarga con un patrón de aumento-disminución se asocia a la inmovilidad. RF, corteza frontal derecha (corteza sensorio-motora). RO, corteza occipital derecha (corteza visual). LF, corteza frontal izquierda. LO, corteza occipital izquierda [103].

El PTZ es un antagonista selectivo del receptor GABA_A, el cual es permeable al ion Cl⁻. Éste modula la inhibición aumentando la concentración de Cl⁻ intra-membrana, aumentando el umbral de despolarización, haciendo más difícil que se dispare un potencial de acción. Cuando el receptor GABA_A es bloqueado por PTZ, hay falta de inhibición y se desencadena una CE.

La escala para calificar la intensidad de las crisis provocadas por PTZ es diferente a la escala utilizada para calificar las CE provocadas por kindling. Está consiste de seis estadios conductuales [104]:

Estadio 1: Detención súbita del comportamiento y mirada inmóvil.

Estadio 2: Espasmos faciales de la boca y ojos.

Estadio 3: Sacudidas del cuello.

Estadio 4: Crisis clónicas en posición de sentado.

Estadio 5: convulsiones tónicas y/o tónico-clónicas mientras se encuentra recostada sobre su vientre.

Estadio 6: Convulsiones tónicas y/o tónico-clónicas mientras se encuentra recostada de lado y/o saltos salvajes.

Existen otros fármacos los cuales también bloquean al receptor GABA_A, como la bicuculina y picrotoxina, los cuales difieren en la dosis, vehículo y vía de administración para provocar CE (Tabla 6).

Otro método para provocar CE es por medio de la aplicación de inhibidores del glutamato descarboxilasa (GAD). El isonicotinohidrazide es un fármaco inhibidor de la GAD, y la administración de este fármaco reduce la producción de GABA y como consecuencia una falta de inhibición la cual provoca CE.

La administración de fármacos agonistas del glutamato como el ácido kaínico, ácido quisquálico y homocisteína, son utilizados para reproducir el EE y cambios neuropatológicos consecuencia de las CE. Las dosis necesarias para provocar una CE o EE, son bajas en comparación con los antagonistas GABAérgicos (Tabla 7).

Tabla 6: Fármacos convulsivos relacionados con GABA [103]				
Fármaco	Solubilidad	Vía de administración	Dosis mg/kg	Diana
Pentilinetetrazol (PTZ)	Salina	Sub-C	40-120	Bloquea los receptores de GABA _A .
		IP	40-100	
Bicuculina	0.1 N HCl	IP	6-8	Bloquea los receptores de GABA _A .
		IV	1-2	
Picrotoxina	Salina	Sub-C, IP, IV	4-6	Bloquea los receptores de GABA _A .
isonicotinohydrazide	Salina	IP	300-400	Inhibidor del ácido decarboxilasa (GAD)
Ácido 3-mercaptopropiónico (3-MPA)	Ya está en liquido	IP	30-60	Atenúa el efecto de los receptores GABA _A
Alilglicina	Salina	IP	100-250	Atenúa el efecto de los receptores GABA _A
β-carbolinas	Ácido acético	IP	1-2	Atenúa el efecto de los receptores GABA _A
		Sub-C	1-5	
Ro 5-3663	0.1 N HCl	IP	5-15	Atenúa el efecto de los receptores GABA _A
Sub-C: inyección subcutánea. IP: inyección intra-peritoneal. IV: inyección intravenosa.				

Tabla 7: Fármacos convulsivos relacionados con Glutamato [103]				
Fármaco	Solubilidad	Vía de administración	Dosis mg/kg	Diana
Ácido kaínico	Buffer de fosfatos	IP	10-14	Agonista selectivo del receptor kainato
Ácido Quiscuálico	Agua	IVC, IP	10μg	Agonista selectivo del receptor AMPA
N-metil-D-aspartato (NMDA)	Salina	IP	120-250	Agonista selectivo del receptor NMDA
Homocisteína	Salina	IP	6-16mmol/kg	Agonista del receptor NMDA
Ácido homocisteico	Salina	IP	>13mmol/kg	Agonista del receptor NMDA
IP: inyección intra-peritoneal. IVC: inyección intra-ventricular.				

9 Núcleo del tracto solitario y epilepsia

El núcleo del tracto solitario (NTS) se localiza en la porción caudal de la médula oblongada, es el primer núcleo de relevo de la información sensorial del NV hacia el cerebro anterior. Se divide en tres partes: gustativo rostral, intermedia y autonómica caudal. La zona gustativa del NTS es el primer relevo de las vías gustativas. La región gustativa se implica con la actividad oral de ingesta y deglución. La porción caudal e intermedia modulan la actividad cardiovascular, pulmonar, vías respiratorias y gastrointestinales, a través de los nervios craneales VII, IX y X.

El NTS tiene conexiones bilaterales con diferentes áreas del cerebro (figura 4) como amígdala, tálamo, formación reticular medial, núcleos del rafe, hipocampo, hipotálamo y *locus coeruleus* (LC) [106]. Lo que demuestra que el NTS participa en la modulación de diferentes zonas del encéfalo.

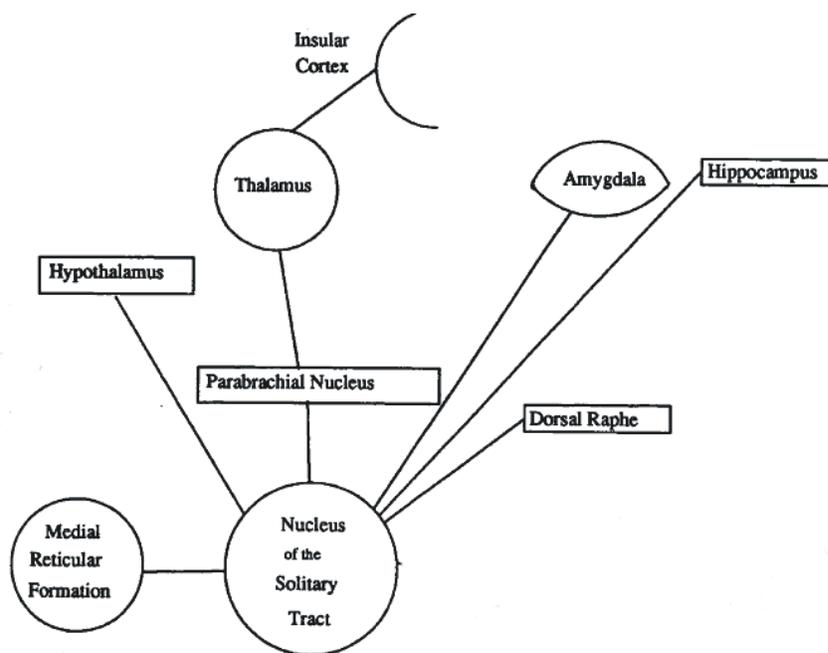


Figura 4. Esquema de las conexiones del NTS hacia estructuras del encéfalo anterior. Tomada y modificada de Rutecki [106]

El NTS contiene neuronas catecolaminérgicas, colinérgicas, glutamatérgicas y GABAérgicas. Las neuronas GABAérgicas están densamente concentradas en la porción rostral del NTS. La actividad de agonistas GABAérgicos en neuronas del NTS rostral disminuye el umbral de reposo e hiperpolariza la membrana, lo cual demuestra que las neuronas del NTS tienen expresado ambos receptores a GABA [107]. La liberación de GABA está mediada por la activación de los receptores mGlu_r, los cuales son activados por aferencias glutamatérgicas de los nervios craneales VII, IX y X que llegan al NTS. Tales datos sugieren que la EENV activa la liberación de Glu, el cual, activa la liberación de GABA en el NTS inhibiendo la actividad de otras estructuras, las cuales pueden estar implicadas en la actividad epileptiforme.

Las neuronas GABAérgicas tienen un axon corto, y sólo tienen conexiones locales, éstas se encargan de mantener el tóno inhibitorio, que funciona como un contrapeso de la excitación neuronal [108]. Un ejemplo es el núcleo reticular del tálamo NRT. Las neuronas del NRT son exclusivamente GABAérgicas. El NRT media la actividad de excitación/inhibición entre la corteza y tálamo por medio de mecanismos de retroalimentación GABAérgica [109].

La actividad de los receptores GABA_A y GABA_B en el NTS participa en la regulación de actividades autonómicas [110], por lo que se piensa que un incremento en la actividad de cualquiera de los receptores a GABA podría inhibir las CE.

Un incremento en la transmisión GABAérgica mediada por muscimol, un agonista del receptor GABA_A, o una disminución en la neurotransmisión glutamatérgica en el NTS reducen la susceptibilidad a las crisis límbicas [111]. La estimulación eléctrica del NTS protege contra el desarrollo de las crisis convulsivas provocadas por kindling amigdalino en gatos [112, 113]. Mientras que la lesión del NTS_m interrumpe el efecto protector de la EENV [114]. Lo que sugiere que el NTS_m tiene un papel importante en el efecto protector contra las CGTC a través de la estimulación eléctrica del NV.

10. Planteamiento del problema

La EENV es un tratamiento utilizado para el tratamiento de la epilepsia refractaria. Datos experimentales muestran que es efectivo para el tratamiento de la depresión, obesidad y ansiedad [115]. Sin embargo es poco lo que se sabe sobre las estructuras y neurotransmisores que podrían estar participando en el efecto protector. Debido a que el NTSm es el primer núcleo de relevo del NV hacia estructuras del encéfalo anterior y el NTSm contiene un número importante de neuronas GABAérgicas, se decidió estudiar el efecto de la aplicación tópica de GABA, (agonista no selectivo), muscimol (agonista del receptor GABA_A) y baclofen (agonista del receptor GABA_B) en el NTSm sobre los componente conductuales y del EEG de las CGTC provocadas por la inyección de 70mg/kg de PTZ, y así analizar cuál de los receptores a GABA en el NTSm tiene un mayor efecto protector.

10.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de los agonistas GABAérgicos en el NTSm sobre las crisis tónico-clónicas, provocadas por pentilenetetrazol (PTZ).

10.2 Objetivos particulares

1. Analizar el efecto de la microinyección de GABA en el NTSm sobre:
 - El índice de mortandad.
 - La latencia para la primera espiga epileptogénica.
 - El número de CGTC.
 - La duración de las CGTC.
 - El número de componentes espiga-onda presentadas en dos horas de registro EEG.
2. Analizar el efecto de la micro-inyección de muscimol en el NTSm sobre:
 - El índice de mortandad.
 - La latencia para la primera espiga epileptogénica.
 - El número de CGTC.
 - La duración de las CGTC.
 - El número de componentes espiga-onda presentadas en dos horas de registro EEG.
3. Analizar el efecto de la micro-inyección de baclofen en el NTSm:
 - El índice de mortandad.
 - La latencia para la primera espiga epileptogénica.

El número de CGTC.

La duración de las CGTC.

El número de componentes espiga-onda presentadas en dos horas de registro EEG.

10.3 Hipótesis

Un aumento de la actividad GABAérgica en el NTSm producida por la micro-inyección de agonistas GABAérgicos protegerá contra la muerte y las CGTC producidas por PTZ.

11 Metodología

11.1 Aparatos

- Estereotáxico (KOPF 1430)
- Estación de soldar
- Taladro MH145
- Cámara de video
- Computadora
- Micrótopo de congelación
- Polígrafo GRASS modelo 78 D
- SP 200i *syringe pump*
- Sistema de adquisición ADQ8CH

11.2 Material

- Microjeringa HAMILTON de 10 μ l
- Agujas dentales de 0.30×25 mm
- Catéter calibre 26
- Acrílico dental
- Conectores macho y hembra de 6 puntas
- Cable plano de 6 hilos
- Instrumental quirúrgico
- Gasas
- Yodo
- Peróxido

- Cera de hueso
- Tornillos
- Cánula de acero inoxidable calibre 24

11.3 Sustancias químicas

- Xilacina
- Ketamina
- Pentobarbital sódico
- Muscimol
- Baclofen
- GABA
- Pentilenetetrazol
- Xilol
- Alcohol absoluto, Alcohol al 96% y Alcohol al 70%
- Entellan
- Buffer de Nissl
- Buffer de fosfato

11.4 Animales y grupos experimentales

Se utilizaron 38 ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 250-300 gramos. Los experimentos se realizaron bajo las especificaciones técnicas para la producción y uso de animales de laboratorio de la SAGARPA (NOM-060-ZOO-1999) y aprobados por el comité de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

Grupo Control: 10 animales

Grupo GABA: 10 animales

Grupo Muscimol: 10 animales

Grupo Baclofen: 8 animales

11.5 Cirugía

Para la cirugía los animales fueron anestesiados con una mezcla de xilacina y ketamina (0.30/0.30 ml), la cual fue inyectada ip. Una vez anestesiada, la rata era rasurada de la cabeza y montada en el estereotáxico. Se realizó una incisión antero-posterior de 3cm. Se calcularon las coordenadas estereotáxicas del NTSm, una vez obtenidas se colocaron tornillos en los huesos frontales, parietales, occipitales y la cánula guía dirigida al NTSm izquierdo fue insertada, con las siguientes coordenadas: P 13.0; L 1.0; H 8.5 del atlas Paxinos y Watson [105]. Los tornillos fueron unidos con soldadura de estaño a un conector macho de seis puntas por medio de alambre *wire graft*. El conector y cánula se fijaron al cráneo con acrílico dental (nic-tone). Finalizada la cirugía las ratas fueron colocadas en cajas individuales con comida y agua *ad libitum*. Se dejó una semana de reposo que sirvió como habituación a las condiciones experimentales.

11.6 Registro EEG y Micro-inyección de agonistas GABAérgicos

Durante el registro, los animales fueron colocados en cámaras de registro de 20×50 cm, y conectados al polígrafo Grass modelo 78D por medio de un conector hembra de 6 puntas. La actividad EEG fue adquirida con el sistema ADQ8CH.

El sistema de inyección consistió en una bomba de inyección SP 200i, jeringa Hamilton de 10µl, aguja dental de 0.30×25mm y un catéter calibre 26. La jeringa Hamilton era colocada en la bomba de inyección SP 200i. El catéter, aguja dental y la aguja de la jeringa Hamilton se unían en los extremos con el fármaco previamente colocado (figura 5).

Para la aplicación del fármaco, la rata era sujeta del cuello con los dedos índice y medio, con los dedos meñique, anular y pulgar se sujetaba el dorso. Una vez sujeta se procedía a colocar el inyector dentro de la cánula-guía y se administraba el fármaco.

Al grupo control se le inyectó 250 nl/1 min de solución salina, cinco minutos después se inyectó PTZ a una concentración de 70 mg/kg ip, una vez administrado el PTZ se registraron por un periodo de dos horas.

Al grupo GABA se le inyectó 250 nl/1 min, de una disolución de GABA a una concentración de 1 Molar. Cinco minutos después se inyectó PTZ (70 mg/kg) vía ip.

Al grupo muscimol se le inyectó 250 nl/min, de una disolución de muscimol a una concentración de 1 Molar. Cinco minutos posteriores a la micro-inyección se inyectó 70 mg/kg de PTZ vía ip.

Grupo baclofen se le inyectó 250 nl/min, de una disolución de baclofen a una concentración de 1 mili-Molar Cinco minutos posteriores a la micro-inyección se inyectó 70mg/kg de PTZ vía ip. Todos los grupos tuvieron una línea base de 20 minutos, y dos horas de registro después de la inyección de PTZ.

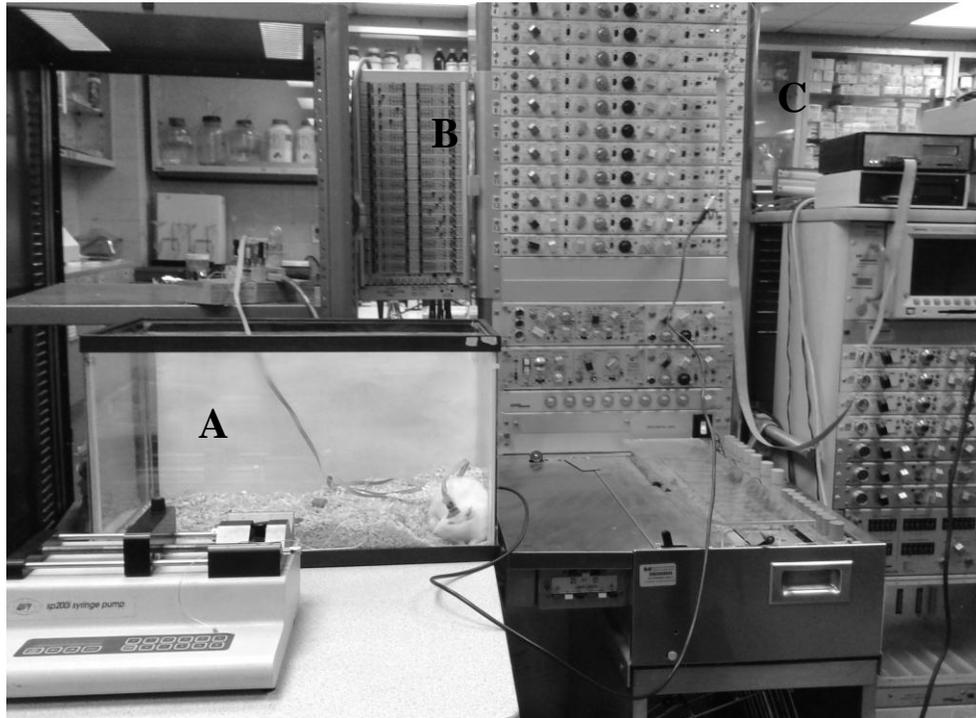


Figura 5: En la parte inferior izquierda se observa la cámara de registro con el animal experimental y el sistema de inyección (A). En el área central se encuentra el polígrafo (B). En la esquina superior derecha se localiza el sistema de adquisición ADQ8CH (C).

11.7 Procedimiento Histológico (tinción de Nissl)

Después de los registros, los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital y se perfundieron para realizar la verificación histológica del sitio de inyección. Se les realizó una incisión en el esternón para separar las costillas y tener acceso al corazón, donde se insertó un catéter en el ventrículo izquierdo, por donde se pasó solución salina al 9%, la aurícula derecha fue perforada para permitir la salida de sangre. Una vez limpio el sistema circulatorio de sangre, se pasó buffer de fosfato para fijar el tejido. Después se procedió a la remoción del cerebro. Los

cerebros se colocaron en frascos de vidrio con buffer de fosfato, donde se dejaron por una semana. Pasado una semana en el buffer de fosfato se cambió por una solución de sacarosa al 30 %, y se dejaron reposar durante una semana. Para hacer los cortes se separó el cerebro posterior (cerebelo y tallo cerebral), el cerebro posterior se colocó en un micrótopo de congelación a -20 °C, y se hicieron cortes sagitales con un grosor de 30 µm. Las rebanadas fueron colocadas en portaobjetos gelatinizados.

Para la tinción de Nissl, los portaobjetos con las rebanadas fueron sumergidos durante cinco minutos en diferentes sustancias, siguiendo el siguiente orden: xilol, alcohol al 100 %, alcohol al 96 %, alcohol al 70 %, agua bidestilada, buffer de Nissl, agua, alcohol al 70 %, alcohol al 96 %, alcohol al 100 % y xilol. Para conservar los cortes se les colocó una gota de entelan seguido de un cubre objetos.

11.8 Análisis estadísticos

Para el análisis de las medias obtenidas de la latencia, número, duración, potencia espectral de las CGTC y número de descargas espiga-onda (DEO) se utilizó la prueba *t* de *student* para muestras independientes, La latencia para la primera espiga, se analizó con ANOVA para muestras independientes. La prueba Chi cuadrada se utilizó para el análisis del índice de mortandad.

12 Resultados

12.1 Histología

La micro-inyección de agonistas GABAérgicos quedó en cuatro sitios diferentes: NTSm, MVe (núcleo medial vestibular), cuarto ventrículo (4V), Med (núcleo medial fastigial cerebelar) y lóbulo 10 del cerebello.

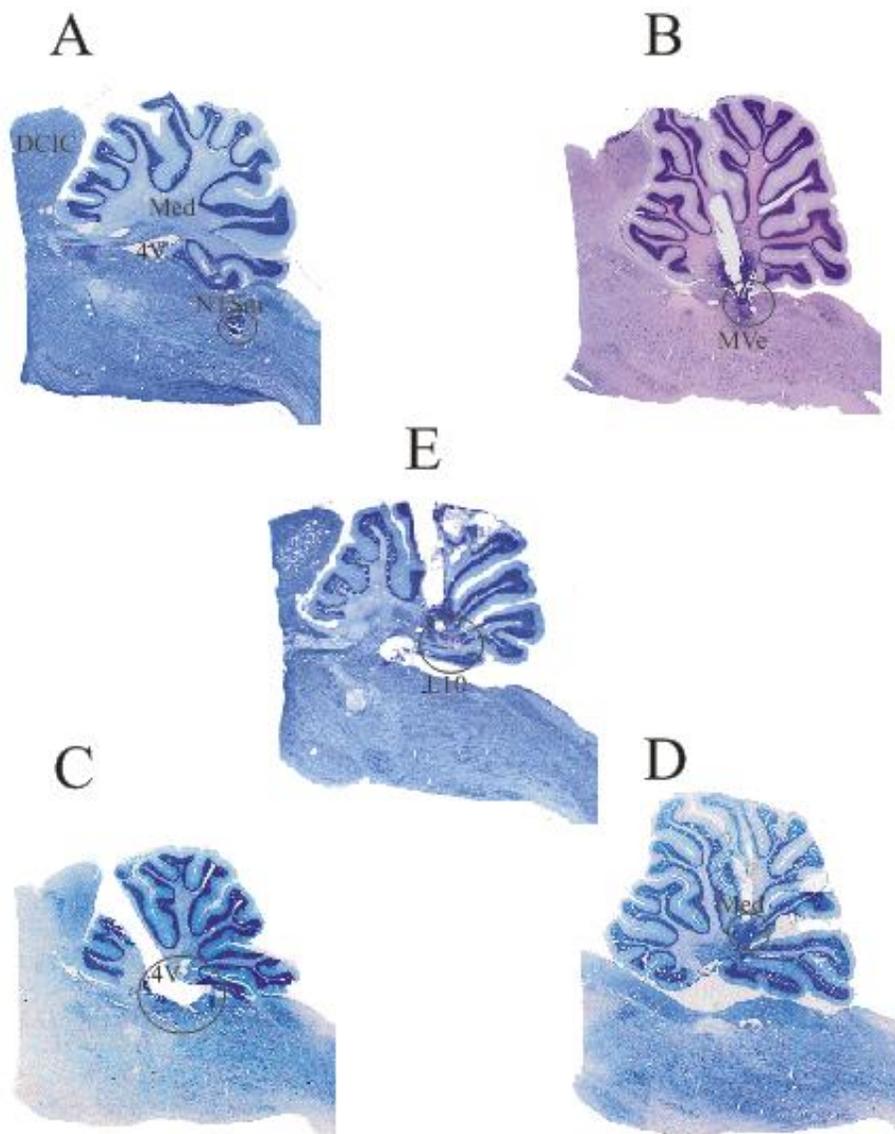


Figura 6. Cortes sagitales con tinción de Nissl. A, corte del cerebro de una rata donde se observa el sitio de la micro-inyección en el NTSm. B, Corte del cerebro de una rata donde se observa el sitio de micro-inyección en MVe. C, corte del cerebro de una rata donde se observa el sitio de micro-inyección en el 4V. D, corte del cerebro de una rata donde se observa el sitio de micro-inyección en Med. L10, lóbulo del cerebello 10.

12.2 Efecto de la micro-inyección de agonistas GABAérgicos en NTSm sobre el índice de mortandad

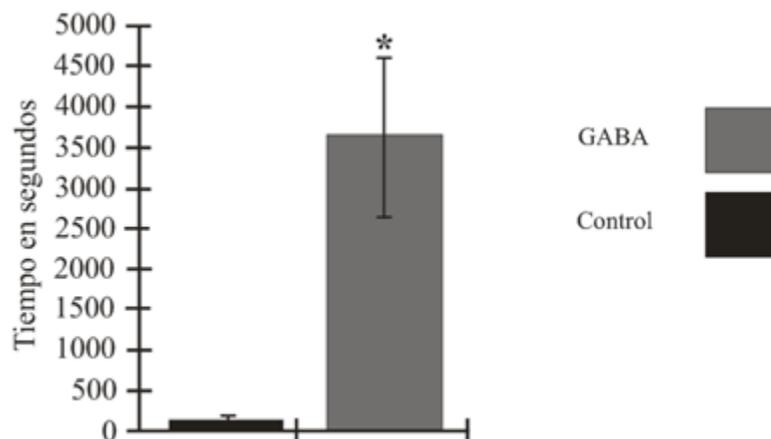
Se observó una disminución del índice de mortandad ($p < 0.002$), en los grupos GABA y muscimol comparados con el control (tabla 8). Cuando la inyección de agonista GABAérgicos quedó en el Med o 4V, también protegió contra la muerte por EE (dato no mostrado).

Tabla 8	
Grupo	Porcentaje de muerte
Control	100
GABA	0*
Muscimol	0*

Tabla 8. Comparación del índice de mortandad. Se observó una disminución del índice de muerte en los grupos GABA y muscimol comparados con el control (* $p < 0.002$) *Chi cuadrada*.

12.3 Latencia para la primera CGTC

Se observó un aumento significativo ($p < 0.040$) en la latencia para la CGTC en el grupo GABA comparado con el control (figura 7). El grupo muscimol, una rata del grupo GABA y la rata a la que se le inyectó baclofen, no tuvieron CGTC. La inyección de agonistas GABAérgicos en el Med, 4V, MEv y L10 no modificó la latencia para la CGTC (dato no mostrado).



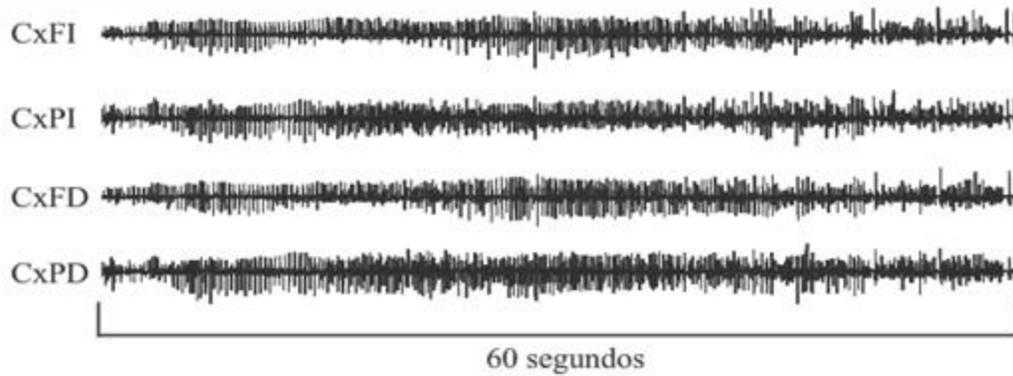


Figura 7. A, Comparación de la latencia para la CGTC del grupo GABA con el control. Se observó un incremento en la latencia para la CGTC en el grupo GABA (* $p < .040$) *t de student* para muestras independientes. B. Trazo donde se ejemplifica una CGTC.

12.4 Número de CGTC

Se observó una disminución significativa ($p < 0.001$) de las CGTC en el grupo GABA comparado con el control (figura 8). La inyección de agonistas GABAérgicos en el Med, 4V, MEv y L10 tuvieron un promedio de 3 ± 0.55 CGTC, similar al grupo control (dato no mostrado).

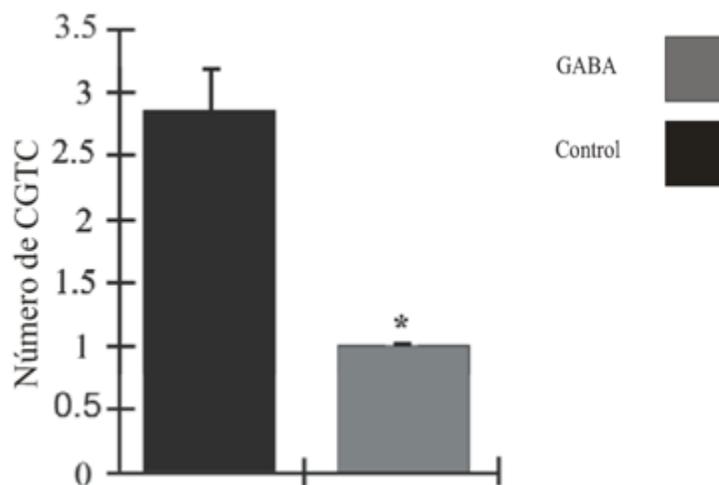


Figura 8. Comparación del número de CGTC del grupo GABA con el control. Nótese una disminución en el número de CGTC en el grupo GABA (* $p < 0.001$) *t de student* para muestras independientes.

12.5 Promedio del número de DEO

Se observó un aumento significativo del número de DEO a los 30 minutos ($p < 0.005$), a los 80 minutos ($p < 0.038$), a los 100 minutos ($p < 0.049$) y a los 120 minutos ($p < 0.001$) en el grupo muscimol comparado con el grupo GABA (figura 9). Se observó un incremento significativo ($p < 0.001$) del número de DEO en el grupo muscimol comparado con el control (figura 10).

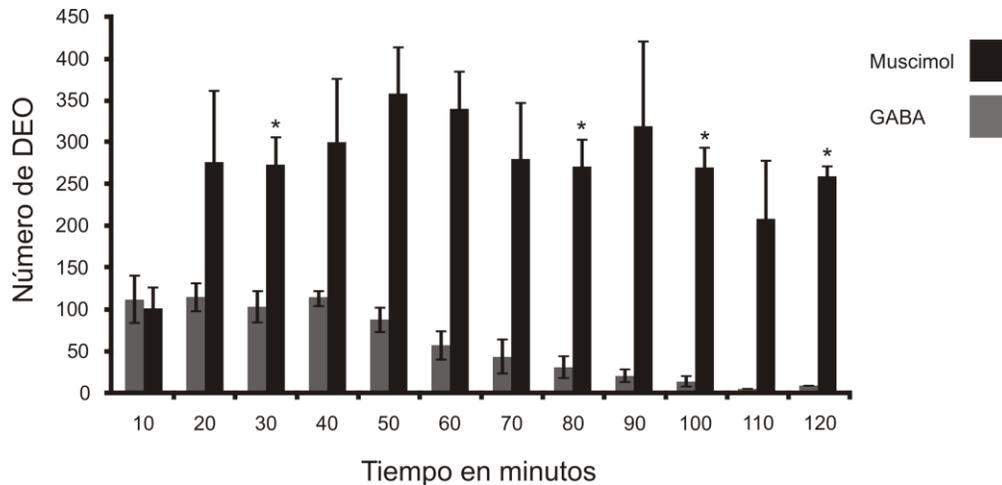


Figura 9. Se observó un incremento significativo del número de E-O en el grupo muscimol a los 30 minutos. ($p < 0.005$) 80 minutos (* $p < 0.006$), 100 minutos (* $p < 0.002$) y a los 120 minutos (* $p < 0.000$) *t de student* para muestras independientes.

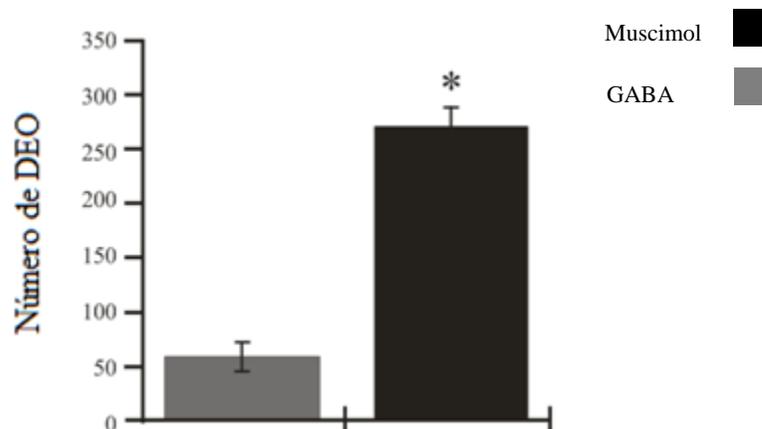


Figura 10. Se observó un incremento significativo del número de E-O en el grupo muscimol comparado con el control *t de student* (* $p < 0.001$).

12.6 Potencia espectral de una CGTC

En el análisis espectral de la frecuencia por wavelets se observó un incremento de la densidad espectral en el ancho de banda de 4 a 14 Hz. durante una CGTC de un animal control comparado con un animal del grupo GABA (figura 11).

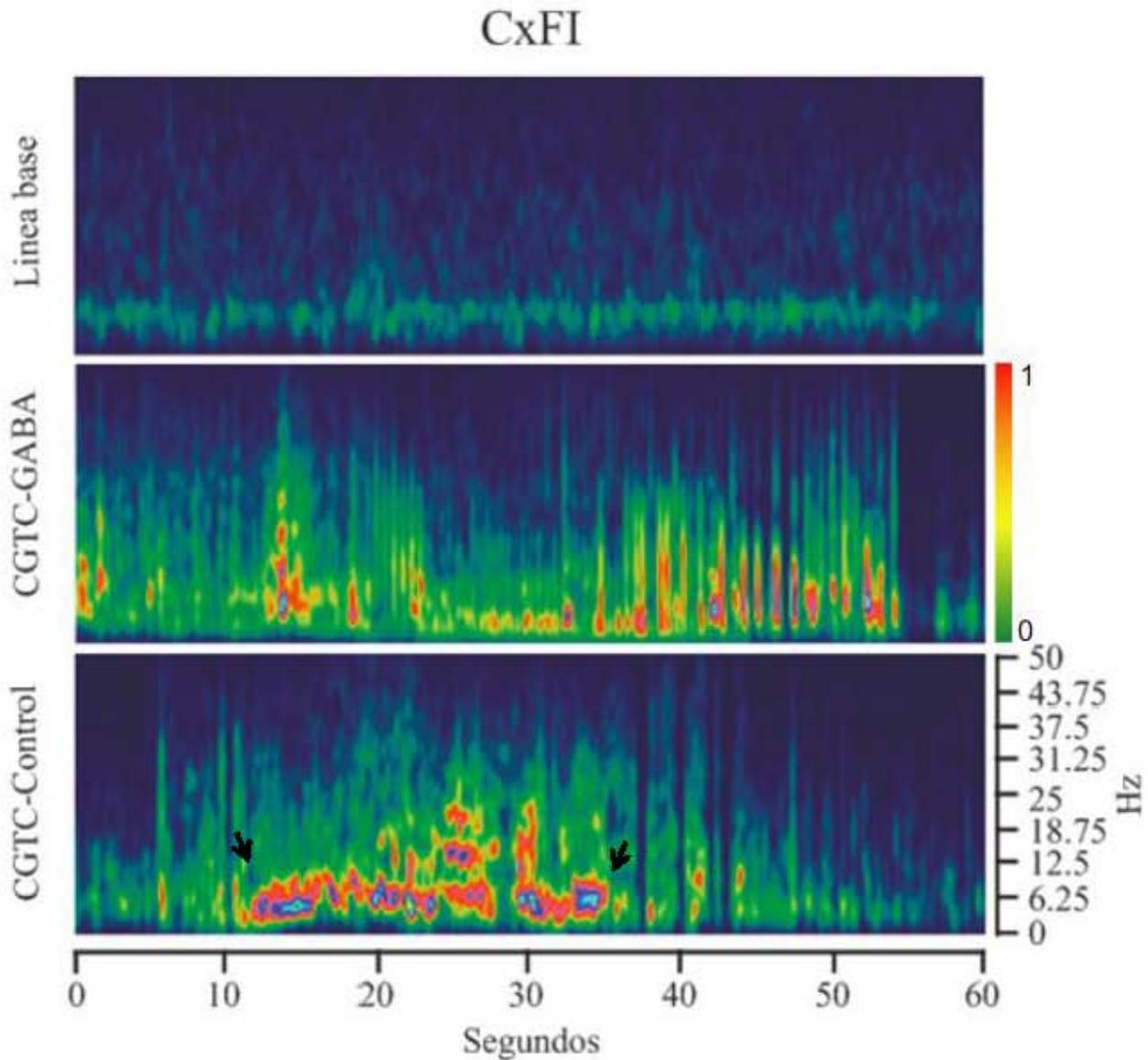


Figura 11. Espectro de potencia por Wavelets de una línea base, una CGTC de una rata del grupo GABA y de una rata del grupo control. Nótese un incremento en la densidad espectral de la banda de frecuencia de entre los 4 y 12 Hz. en la figura CCTC-Control. Los colores cálidos indican mayor potencia.

12.7 Análisis de potencia por la transformada rápida de Fourier (FFT)

Los datos obtenidos en el análisis por FFT de las CGTC, fueron transformados a números para su análisis estadístico.

En la comparación del grupo control con el grupo GABA, se observó durante las CGTC un aumento significativo en las potencias de 0.5 a 4.5 Hz ($p < 0.006$), de 4.6 a 7.5 Hz y de 7.6 a 12.5 Hz ($p < 0.001$) en la CxFI (figura 12).

En la comparación del grupo control con el grupo GABA, se observó durante las CGTC un aumento significativo en las potencias de 7.6 a 12.5 Hz ($p < 0.031$) en la CxFD (figura 13).

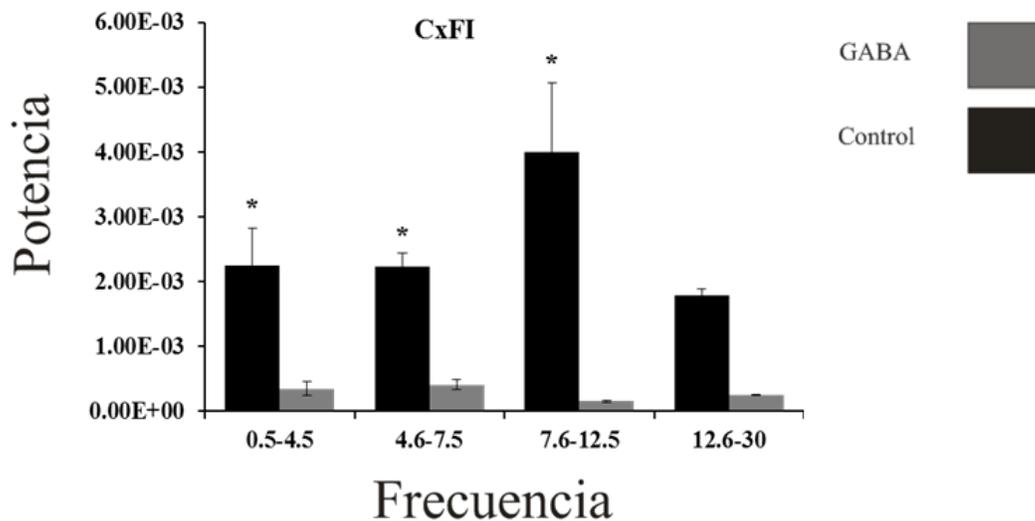


Figura 12. Comparación de la potencia en CxFI durante las CGTC. Nótese la diferencia significativa en las tres primeras bandas (* $p < 0.006$, * $p < 0.001$, prueba *t* de *student* para muestras independientes).

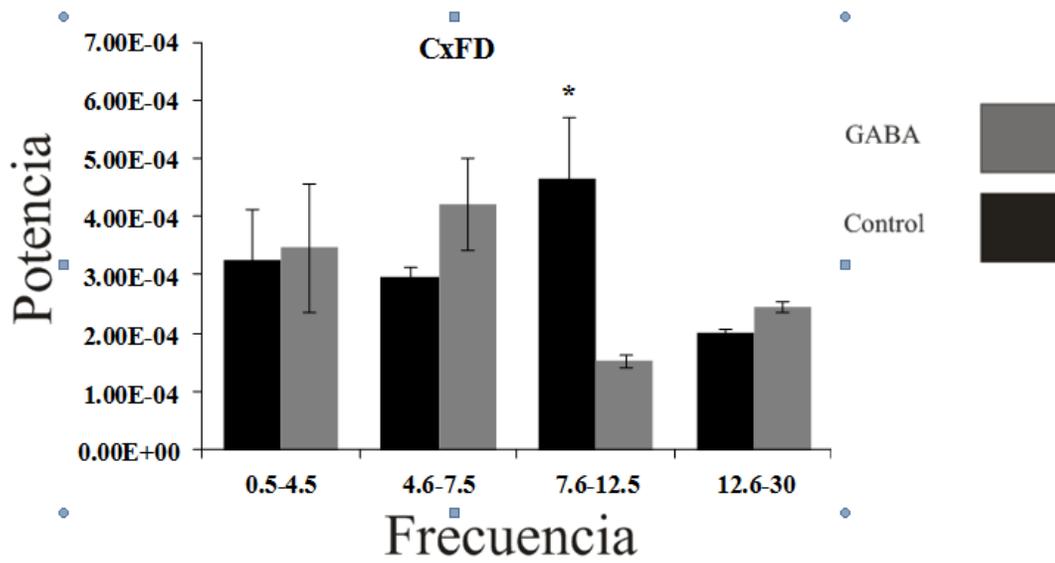


Figura 13. Comparación de la potencia en CxFD durante las CGTC. Nótese la diferencia significativa en la banda de 7.6 a 12.5 Hz (* $p < 0.031$, prueba *t* de *student* para muestras independientes).

En la comparación del grupo control con el grupo GABA, se observó durante las CGTC un aumento significativo en las potencias de 4.6 a 7.5 Hz, de 7.6 a 12.5 y de 12.6 a 30 Hz ($p < 0.001$) en la CxPI (figura 14).

En la comparación del grupo control con el grupo GABA, se observó durante las CGTC un aumento significativo en las potencias de 4.6 a 7.5 Hz, de 7.6 a 12.5 y de 12.6 a 30 Hz ($p < 0.001$) en la CxPD (figura 15).

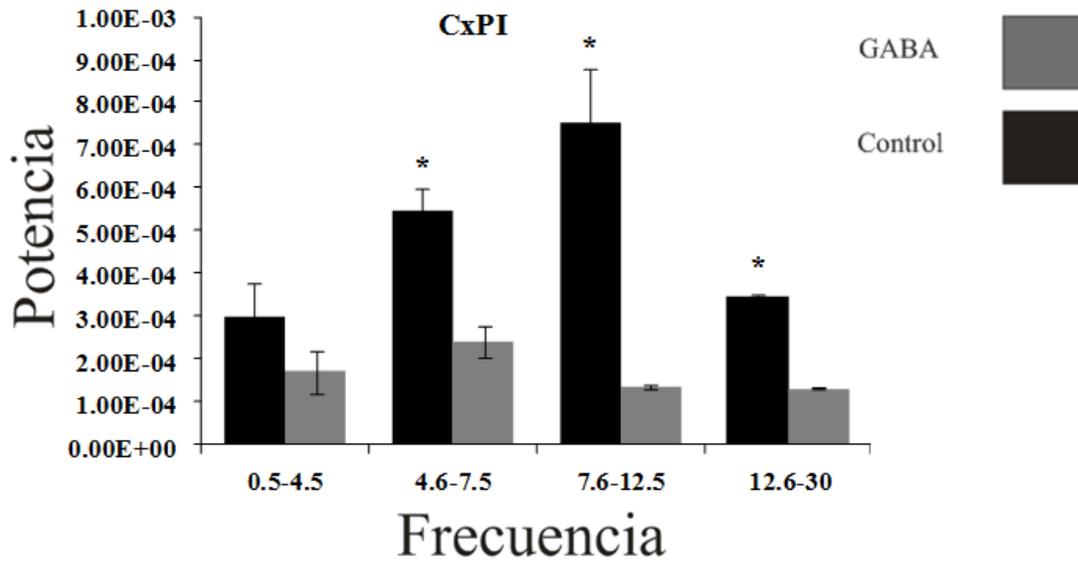


Figura 14. Comparación de la potencia en CxPI durante las CGTC. Nótese la diferencia significativa en la banda de 4.6 a 7.5 Hz de 7.6 a 12.5 Hz, de 12.5 a 30 Hz ($p < 0.001$, prueba *t* de *student* para muestras independientes).

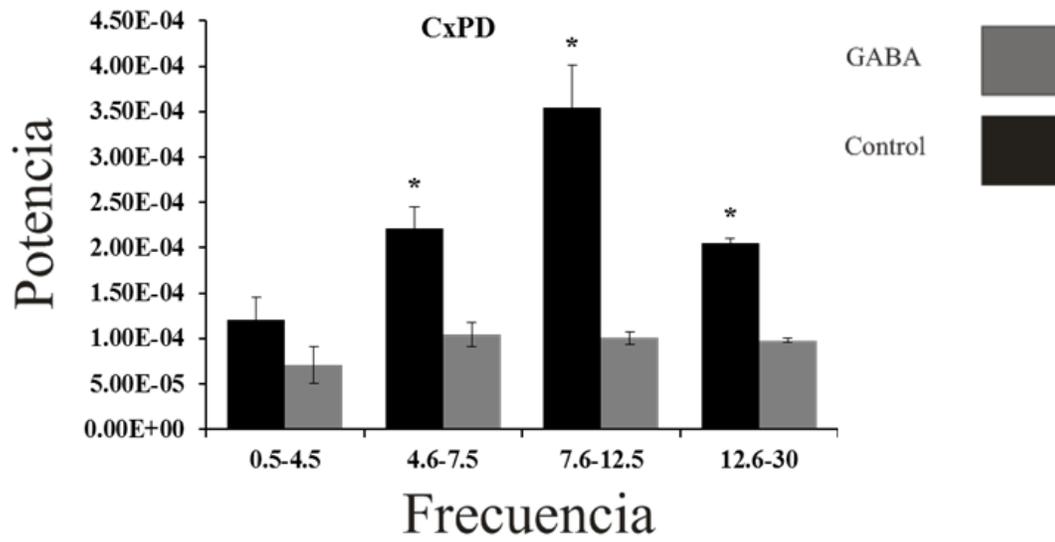


Figura 15. Comparación de la potencia en CxPD durante las CGTC. Nótese la diferencia significativa en la banda de 4.6 a 7.5 Hz de 7.6 a 12.5 Hz, de 12.5 a 30 Hz ($p < 0.001$, prueba *t* de *student* para muestras independientes).

7. Discusión

Los resultados muestran que el aumento en la actividad GABAérgica en NTS_m protege contra la muerte por CGTC y/o EE. Varias de las características del SUDEP en humanos, fueron observadas en ratas controles que murieron durante o después de la actividad convulsiva. Nasher *et al.*, reportó, que pacientes epilépticos que fueron encontrados sin vida presentaban evidencia de haber sufrido CE, lengua mordida e incontinencia urinaria [116]. También hay reportes de que la muerte ocurre después de una CE, en las que se observaron dificultades respiratorias (apneas) [117]. En nuestros resultados los animales controles murieron después de sufrir CE, tuvieron apneas, incontinencia urinaria y durante el procedimiento de perfusión se observó la lengua mordida. Sin embargo, no puede ser considerado como SUDEP, debido a que la muerte no fue espontánea, sino consecuencia de las CE provocadas por PTZ. Pero los datos obtenidos nos permiten dilucidar los mecanismos del SUDEP.

Las causas de muerte relacionadas al SUDEP son la apnea central, edema pulmonar agudo neurogénico y la hipoxemia [39, 40]. Los animales a los que se les inyectó agonistas GABAérgicos en el NTS_m, no murieron, lo que sugiere que la actividad GABAérgica en el NTS_m modula la respiración durante las CE, manteniendo la estabilidad de la frecuencia respiratoria, no permitiendo la muerte por hipoxemia. Los animales del grupo GABA que tuvieron CE tuvieron un aumento en la frecuencia respiratoria, pero no se observaron apneas, mientras que los animales que murieron padecieron apneas al final de las CE. Diferentes investigaciones [118, 119, 120] muestran que el NTS contiene neuronas que responden a los movimientos de inspiración y expiración, las cuales son activadas por las aferencias pulmonares del NV. Estas aferencias están involucradas en el cambio del volumen pulmonar resultantes de los reflejos adaptativos de inhibición y excitación.

Otras de las causas relacionadas con el SUDEP son las arritmias cardíacas (taquicardias y braquicardias). A pesar de que la actividad cardiovascular no se midió durante el experimento, se ha propuesto que el aumento de la actividad GABAérgica en el NTS, protege contra la muerte por medio de la regulación de la actividad cardiovascular durante las CE. Se ha descrito que el GABA en el NTS tiene un papel importante en la actividad cardiovascular. La inyección de agonistas GABAérgicos (muscimol para GABA_A o baclofen para GABA_B) aumentan la presión arterial acompañado por un aumento en la frecuencia cardíaca [121, 122, 123]. El incremento de la presión arterial, provocado por la inyección de agonistas GABAérgicos en el NTS es resultado

de la activación del reflejo barorreceptor mediado por los receptores GABA_A y GABA_B [124]. Por otra parte la inyección de antagonistas GABAérgicos (bicuculina) en el NTS disminuye la presión arterial [118]. Doba y Reis [124] reportaron que la lesión electrolítica bilateral del NTS provoca la muerte por insuficiencia cardíaca y edema pulmonar en un lapso de 6 a 8 horas después de la lesión.

El aumento de la presión arterial en condiciones normales, corresponde al incremento del gasto cardíaco durante la acentuación de la actividad física, debido a que se expulsa más sangre durante el movimiento sistólico, para oxigenar los órganos [125]. Por lo que se sugiere que el aumento de la presión arterial mediada por GABA durante una CE, mantiene a los órganos con suficiente oxígeno, evitando la muerte por hipoxia.

El efecto protector de los agonistas GABAérgicos en el NTSm contra las CGTC, puede deberse a las conexiones que el NTS tiene con el LC y núcleos dorsales del rafe (NDR). La actividad de estos núcleos es activada por la EENV [126], la cual es mediada por el NTS, ya que el NV no conecta de manera directa con el LC y NDR, sino a través del NTS [106]. El aumento de la actividad GABAérgica en el NTSm podría estar mediando la activación del LC y NDR, núcleos que han sido relacionados con el efecto anticonvulsivo de la EENV. Se ha descrito que la lesión del LC disminuye el efecto antiepiléptico de la EENV [127]. García & Miranda, reportaron que la estimulación química del NTS induce la liberación de norepinefrina en la amígdala basolateral [128] efecto que se explica por las conexiones polisinápticas entre el NTS-LC-amígdala. El efecto antiepiléptico de la NE se debe al receptor adrenérgico α_2 , que se localiza en las terminales glutamatérgicas e inhibe la liberación de Glu [129]. Los receptores adrenérgico α_2 están densamente expresados en neuronas glutamatérgicas de la amígdala y la corteza piriforme, estructuras que disparan la actividad epiléptica y que reciben proyecciones del LC [130]. El NDR es el núcleo serotoninérgico más grande, y envía proyecciones a la corteza cerebral, cerebelo, amígdala, tálamo, núcleo caudado y putamen. La liberación de serotonina por parte de este núcleo se ha relacionado con un efecto protector contra las CE. La administración de fármacos que aumentan la concentración de GABA provocan un aumento en la concentración de serotonina en amígdala e hipocampo [131]. Datos experimentales muestran al receptor serotoninérgico 5HT_{1A}, como el receptor que modula el efecto anticonvulsivo de la serotonina, el cual se encuentra en áreas límbicas [132].

El GABA, muscimol y baclofen protegieron contra la muerte y las CGTC, sin embargo no suprimió las DEO, actividad asociada a las crisis de ausencia (CA). Se ha visto que los fármacos que incrementan la concentración de GABA como mecanismo antiepiléptico, no tienen efecto sobre las CA [133]. La EENV no es efectivo contra las CA, incluso puede aumentar la duración de las CA si la estimulación se aplica al comienzo de las crisis [134], lo que soporta la idea de que la EENV actúa aumentando los niveles de GABA.

En la comparación entre los grupos GABA y muscimol se observó un incremento del número de DEO en el grupo muscimol, comparado con el grupo GABA, el cual a su vez fue superado por la rata a la que se le inyectó baclofen. Lo que indica diferencias en los mecanismos de los receptores a GABA, y que la actividad GABAérgica en el NTSm puede estar participando en la regulación de las CA, por medio de las conexiones que el NTS tiene con el tálamo dorso-medial [106]. A pesar de que las CA se asocian a alteraciones en los receptores GABA_A y GABA_B del circuito tálamo-cortical, nuestros resultados indican que la actividad GABAérgica en el NTSm interviene en las CA. Cuando sólo uno de los receptores a GABA se activa, el número de DEO aumenta, pero si los dos receptores son activados el número de DEO es menor. En el circuito tálamo-cortical, las CA se han atribuido a una disminución en la actividad de los receptores GABA_A localizados en el núcleo reticular talámico [135, 136]. La participación del receptor GABA_B en las CA también ha sido estudiado. Ratas transgénicas, carentes de las subunidades GABA_{B1} y GABA_{B2} presentan CA espontáneas [137]. Se ha encontrado que las ratas WAG/Rij, tienen reducido el receptor GABA_B en la neocorteza [138]. Wang *et al.*, demostró que la DEO, en ratas transgénicas carentes del receptor GABA_{B1}, se originan en las proyecciones del NRT y tálamo medial que conectan con CA1 y corteza cerebral [139].

Los resultados en la presente investigación sugieren la participación del sistema GABAérgico del NTSm durante la EENV, tratamiento utilizado para el control de la epilepsia. Hay reportes de que la EENV mejora la calidad de vida de pacientes epilépticos comparados con pacientes que son tratados con medicamentos o cirugía, ya que se reduce el número de CE, y como consecuencia el número de ingresos a servicios médicos se ve disminuido, con lo que también el gasto en medicamentos es reducido, factores que llevan a una mejora en la calidad de vida de los pacientes y de sus familias [140, 141].

Bibliografía

1. Organización Mundial de la Salud. Nota descriptiva. Enero 2009.
2. Magiorkinis E, Sidiropoulou K, Diamantis A. Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. *Epilepsy Behav.* 2010;17(1):103-8.
3. Simón Brailowsky. *Epilepsia: enfermedad sagrada del cerebro*. México D. F: Fondo de Cultura Económica (1998).
4. Fisher R, Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J. Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia.* 2005; 46 (4): 470-472.
5. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010; 51(4): 676-685.
6. Bradford HF. Glutamate, GABA and epilepsy. *Prog Neurobiol* 1995; 47(6): 477-511.
7. Robert F, Solomon L. Atlas of Epilepsies: capítulo 5 sección 24; Excitation/Inhibition Interactions and Seizures: the Brain's Lifelong Balancing Act, pag: 178.
8. Nadler JV, Perry BW, Cotman CW. Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature* 1978; 271 (5646): 676-677.
9. Namba T, Morimoto K, Sato K, Yamada N and Kurada S. Antiepileptogenic and anticonvulsant effects of NBQX, a selective AMPA receptor antagonist, in the rat kindling model of epilepsy. *Brain Res* 1994; 638: 36-44
10. Sato K, Morimoto K, Yamada N, Kurada S, Hayabara T. NBQX, a selective antagonist of the AMPA receptor, affects neither field potentials nor long-term potentiation in vivo. *Brain Res* 1995; 683: 279-282.
11. Kodama M, Yamada N, Sato K, Kitamura Y, Koyama F, Sato T., et al. Effects of YM90K, a selective AMPA receptor antagonist, on amígdala-kindling and long-term hippocampal potentiation in the rat. *Eur J Pharmacol* 1999; 374: 11-19.

12. Rona S, Rosenow F, Arnold S, Carreño M, Diehl B, Ebner A., et al. A semiological classification of status epilepticus. *Epileptic Disord* 2005; 7(1):5-12.
13. Homes KH, Bilkey DK, Laverty R, Goddard GV. The N-methyl-D-aspartate antagonists aminophosphonovalerate and carboxypiperazinephosphonate retard the development and expression of kindling seizures. *Brain Res* 1990; 506: 227-235.
14. Morimoto K, Katayama K, Inoue K, Sato K. Effects of competitive and noncompetitive NMDA receptor antagonists on kindling and LTP. *Pharmacol Biochem Behav* 1991; 40: 893-899.
15. Pillai J, Sperling MR. Interictal EEG and the diagnosis of epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47: 14-22.
16. Guillian F, Bowling S, Bilir E, Thomas J, Faught E, Morawetz TR, Palmer C, Hugg J, Kuzniecky R. Association of combined MRI, interictal EEG, and ictal EEG results with outcome and pathology after temporal lobectomy. *Epilepsia* 1997; 38: 1315-1320.
17. Cretutzfeldt O, Watanabe S, Lux HD. Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. II. Spontaneous and convulsoid activity. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1966; 20: 19-37.
18. Wong R, Miles R, Traub RD. Local circuit interactions in synchronization of cortical neurones. *J. exp. Biol* 1984; 112:169-178.
19. Matsumoto H, Marsan CA. Cortical Cellular phenomena in experimental epilepsy: interictal manifestations. *Ex Neuron* 1964; 9: 286-304.
20. Ayala GF, Dichter M, Gumnit RJ, Matsumoto H, Spencer WA. Genesis of epileptic interictal spikes. New knowledge of cortical feedback systems suggests a neurophysiological explanation of brief paroxysms. *Brain Res* 1973; 52: 1-17.
21. Johnston D, Brown TH. Giant synaptic potential hypothesis for epileptic activity. *Science* 1981; 211: 294-297.
22. Prince DA. Inhibition in epileptic neurons. *Exp Neurol* 1968a; 21: 307-321.
23. Prince DA. The depolarization shift in epileptic neurons. *Exp Neurol* 1968b; 21: 467-468.

24. Lopantsev V, Avoli M. Participation of GABAA-mediated inhibition in ictal-like discharges in the rat entorhinal cortex. *J Neurophysiol* 1998; 79: 352-360.
25. Consalvo DE, Kochen SS, Silvia WH, Oddo SA, Giagante B, Salgado PA, Schuster GS, Silca REP. Resonancia magnética y localización clínica y electroencefalográfica en la epilepsia focal. *Medicina* 2001; 61: 53-56.
26. Blumenfeld H. From molecules to networks: Cortical/Subcortical interactions in the pathophysiology of idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44: 7-15.
27. Dichter MA, Ayala GF. Cellular mechanism of epilepsy: a status report. *Science* 1987; 237: 157-164.
28. Celesia G. Modern concepts of status epilepticus. *JAMA* 1976; 235: 1571-1574.
29. Shepherd S. Management of status epilepticus. *Emerg Med Clin North Am.* 1994;12: 941-61.
30. Lowenstein DH, Aminoff MJ. Clinical, EEG features of status epilepticus in comatose patients. *Neurology* 1999; 42: 100-104.
31. Stephen J, Nathan B and Fountain. Pathophysiology and definitions of seizures and status epilepticus. *Emerg Med Clin N Am* 2011; 29: 1-13.
32. Dasheiff RM. Sudden unexpected death in epilepsy: a series from an epilepsy surgery program and speculation on the relationship to sudden cardiac death. *J Clin Neurophysiol* 1991; 8:216–222.
33. Trinka E, Höfler J and Zerbs Alexander. Causes of status epilepticus. *Epilepsia* 2012; 53 (Suppl.4): 127-138.
34. Leestma JE, Annegers JF, Brodie MJ, et al. Sudden unexplained death in epilepsy: observations from a large clinical development program. *Epilepsia* 1997; 38:47–55.
35. Campos MR. Mortalidad en las epilepsias. *Rev Neurol* 2000; 30 (supl 1): 110-114.

36. Nashef L, Walker F, Allen P, Sander JW, Shorvon SD, Fish DR. Apnoea and bradycardia during epileptic seizures: relation to sudden death in epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 60: 297-300.
37. So EL, Sam MC, Lagerlund TL. Postictal central apnea as a cause of SUDEP: evidence from near-SUDEP incident. *Epilepsia* 2000; 41: 1494-1497.
38. Terrence CF, Rao GR, Perper JA. Neurogenic pulmonary edema in unexpected, unexplained death of epileptic patients. *Ann Neurol* 1981; 9: 458-464.
39. Jehi L. Sudden unexpected death in epilepsy: Impact, mechanisms, and prevention. *Cleveland Clinic journal of Medicine* 2008; 75 (supplement 2): 66-70.
40. Blumhardt LD, Smith PE, Owen L. Electrocardiographic accompaniments of temporal lobe epileptic seizures. *Lancet* 1986; 1: 1051-1056.
41. Leung H, Kwan P, Elger CE. Finding the missing link between ictal bradyarrhythmia, ictal asystole, and sudden unexpected death in epilepsy. *Epilepsy behav* 2006; 9: 19-30.
42. Leung H, Schindler K, Kwan P, Elger C. Asystole induced by electrical stimulation of the left cingulate gyrus. *Epileptic Disord* 2007; 9:77-81.
43. Galimberti CA, Marchioni E, Barzizza F, Manni R, Sartori I, Tartara A. Partial epileptic seizures of different origin variably affect cardiac rhythm. *Epilepsia* 1996; 37: 742-747.
44. Gastaut H and Treatment. *Epileptic Seizures: clinican and electrographic features, diagnosis and treatment*. Springfield, IL Charles C Thomas Publisher; 1972: 28.
45. Lason W, Jastrzebska MD, Rejdak K, Stanislaw J, Czucwar. Basic mechanisms of antiepileptic drugs and their pharmacokinetic/pharmacodynamics interactions: an update. *Pharmalogical Reports* 2011; 63: 271-292.
46. Rosenow F, Luders H. Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain* 2001; 124: 163-170.
47. Wibe S, Blume WT, Girvin JP, Eliasziw M. A randomized, controlled trial of surgery for temporal-lobe epilepsy. *N Engl J Med* 2001; 345: 311-318.
48. Spencer S and Huh L. Outcomes of epilepsy surgery in adults and children. *Lancet Neurol* 2008; 7: 525-537.

49. Benbadis SR, Tatum WO. When drugs don't work: an algorithmic approach to medically intractable epilepsy. *Neurology* 2000; 55: 1780-1784.
50. Schramm J and Clusman H. The surgery of epilepsy. *Neurosurgery* 2008; 62 (suppl 2): 463-481.
51. Calvo B and Haggard P. Estimulación magnética transcraneal. Aplicaciones en neurociencia cognitiva. *Rev Neurol* 2004; 38: 374-380.
52. Pascual L, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex (review). *Annu Rev Neurosci* 2005; 28: 377-401.
53. Daniele O, Brighina F, Piazza A, Giglia G, Scalia S, Fierro B. Low-frequency transcranial magnetic stimulation in patients with cortical dysplasia: a preliminary study. *J Neurol* 2003; 250: 761-762.
54. Fregni F, Otachi P, Valle A. Randomized clinical trial of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with refractory epilepsy. *Ann Neurol* 2006; 60: 447-455.
55. Joo EY, Han SJ, Chung SH, Cho JW, Seo DW, Hong SB. Antiepileptic effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation by different stimulation durations and locations. *Clin Neurophysiol* 2007; 118: 702-708.
56. Dhuna A, Gates J, Pascal-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in patients with epilepsy. *Neurology* 1991; 41: 1067-1071.
57. Pascal-Leone A, Gates JR, Dhuna A. Induction of speech arrest and counting errors with rapid-rate transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 1991; 41: 697-702.
58. Gates JR, Dhuna A, Pascual-Leone A. Lack of pathologic changes in human temporal lobes after transcranial magnetic stimulation. *Epilepsia* 1992; 33: 504-508.
59. Theodore WH, Hunter K, Chen R. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of seizure: a controlled study. *Neurology* 2002; 59: 560-562.
60. Alexopoulos AV, Gonugunta V, Yang J and Boulis M. Electrical stimulation and gene-based neuromodulation for control of medically-refractory epilepsy. *Acta Neurochir Suppl* 2007; 97(2): 293-309.

61. Lesser RP, Kim SH, Beyderman L, Miglioretti DL, Webber WR, Bare M, Csyk B, Krauss G, Gordon B. Brief bursts of pulse stimulation terminate afterdischarges caused by cortical stimulation. *Neurology* 1999; 53: 2073-2081.
62. Motamedi GK, Lesser RP, Miglioretti DL, Mizuno-Matsumoto Y, Gordon B, Webber WR, Jackson DC, Sepkuty JP, Crone NE. Optimizing parameters for terminating cortical afterdischarges with pulse stimulation. *Epilepsia* 2002; 43: 836-846.
63. Osorio I, Frei MG, Sunderam S, Giftakis J, Bhavaraju NC, Schaffner SF, Wilkinson SB. Automated seizure abatement in humans using electrical stimulation. *Ann Neurol* 2005; 57: 258-268.
64. Pérez E. Estimulación cerebral profunda: posibles aplicaciones en los trastornos adictivos. *Trastornos Adictivos* 2010; 12(4): 144-147.
65. Velasco F, Carrillo-Ruiz JD, Brito F, Velasco M, Velasco AL, Marquez I. Double-blind, randomized controlled pilot study of bilateral cerebellar stimulation for treatment of intractable motor seizures. *Epilepsia* 2005; 46: 1071-1081.
66. Benabid AL, Koudsie A, Benazzouz A, Vercueil L, Fraix V, Chabardes S. Deep brain stimulation of the corpus luyisi (subthalamic nucleus) and other targets in Parkinson's disease. Extension to new indications such as dystonia and epilepsy. *J Neurol* 2001; 248(suppl 3): 37-47.
67. Chabardes S, Kahane P, Minotti L, Koudsie A, Hirsh E, Benabid AL: Deep brain stimulation in epilepsy with particular reference to the subthalamic nucleus. *Epileptic Disord* 2002; 4(suppl 3): 83-93.
68. Wille C, Steinhoff BJ, Altenmüller DM, Staack AM, Bilic S, Nikkhah G. Chronic high-frequency deep-brain stimulation in progressive myoclonic epilepsy in adulthood-report of five cases. *Epilepsia* 2011; 52: 489-496.
69. Velasco AL, Velasco F, Jiménez F, Velasco M, Castro G, Carrillo-Ruiz JD. Neuromodulation of the centromedian thalamic nuclei in the treatment of generalized seizures and the improvement of the quality of life in patients with Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsia* 2006; 47: 1203-1212.
70. Upton AR, Amin I, Garnett S, Springman M, Nahmias C, Cooper IS. Evoked metabolic responses in the limbic-striate system produced by stimulation of anterior thalamic nucleus in man. *Pacing Clin Electrophysiol* 1987; 10: 217-225.

71. Hodaie M, Wennberg RA, Dostrovsky JO, Lozano AM. Chronic anterior thalamus stimulation for intractable epilepsy. *Epilepsia* 2002; 43: 603-608.
72. Andrade DM, Zumsteg D, Hamani C, Hodaie M, Sarkissian S, Lozano AM. Long-term follow-up of patients with thalamic deep brain stimulation for epilepsy. *Neurology* 2006; 66 (57): 1573-1580.
73. Andrade DM, Hamani C, Lozano AM, Wennberg RA. Dravet syndrome and deep brain stimulation: seizure control after 10 years of treatment. *Epilepsia* 2010; 51(7): 1314-1316.
74. Osorio I, Overman J, Giftakis J, Wilkinson SB: High frequency thalamic stimulation for inoperable mesial temporal epilepsy. *Epilepsia* 2007; 48(8): 1561-1571.
75. Fisher R, Salanova V, Witt T, Worth R, Henry T, Gross R. Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsia* 2010; 51(5): 899-908.
76. Maksimow K. Interruption of grand mal epileptic seizures by the trigeminal nerve stimulation. *Neurol Neurochir Pol* 1976; 10: 205-208.
77. DeGiorgio CM, Shewmon DA, Whitehurst T. Trigeminal nerve stimulation for epilepsy. *Neurology* 2003; 61: 421-422.
78. DeGiorgio CM, Shewmon DA, Whitehurst T. Pilot feasibility study of trigeminal nerve stimulation for epilepsy. A proof of concept trial. *Epilepsia* 2006; 47(7): 1213-1215.
79. DeGiorgio CM, Murray D, Markovic D, Whitehurst T. Trigeminal nerve stimulation for epilepsy: long-term feasibility and efficacy. *Neurology* 2009; 72: 936-938.
80. Patwardhan RV, Tubbs RS, Killingsworth CR, Rollins DL, Smith WM, Ideker RE. Ninth cranial nerve stimulation for epilepsy control. Part 1: efficacy in animal model. *Pediatr Neurosurg* 2002; 36(5): 236-243.
81. Tubbs RS, Wellons JC, Patwardhan RV, Oakes WJ, Wyss JM. The effectiveness of Hering's nerve stimulation in controlling penicillin-induced seizures in the rat is dependent on the amygdale. *Pediatr Neurosurg* 2002; 37(5): 231-234.

82. Tubbs RS, Patwardhan RV, Wellons JC, Oakes WJ. Cortical representation of Hering's nerve: a possible anatomical pathway for seizure cessation following electrical stimulation. *Pediatr Neurosurg* 2002; 37(5): 235-239.
83. Tubbs RS, Patwardhan RV, Oakes WJ. Ninth cranial nerve stimulation for epilepsy control. Part 2: Surgical feasibility in humans. *Pediatr Neurosurg* 2002; 36(5): 244-247.
84. Schweitzer A, Wright S. Effects on the knee jerk of stimulation of the central end of the vagus and of various changes in the circulation and respiration. *J Physiol* 1937; 88: 459-475.
85. Bailey P, Bremer F. Asensory cortical representation of the vagus nerve. *J Neurophysiol* 1938; 1: 405-412.
86. Stoika I, Tudor I. Effects of vagus afferents on strychninic focus of coronal gyrus. *Rev Roum Neurol* 1967; 4: 287-295.
87. Zabara J. Inhibition of experimental seizures in canines by repetitive vagal stimulation. *Epilepsia* 1992; 33(6): 1005-1012.
88. Ben-Menachem E, Manon-Espaillet R, Ristanovic R, Wilder BJ, Stefan H, Mirza W, Tarver WB, Wernicke JF. First international vagus nerve stimulation study group, 1994. Vagus nerve stimulation for treatment of partial seizures: 1. A controlled study of effect on seizures. *Epilepsia* 1994; 35: 616-626.
89. Englot DJ, Chang EF, Auguste KI. Efficacy of vagus nerve stimulation for epilepsy by patient age, epilepsy duration, and seizure type. *Neurosurg Clin N Am* 2011; 22: 443-448.
90. Reid S, Sybert G. *Electrophysiology of epilepsy*. New York. Academic press 1984.
91. Wada JA, Sato M. Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala in cats. Correlative electrographic and behavioral features. *Neurology* 1974; 24: 565-574.
92. Gastaut H, Naquet R, Roger A. Etude des post-décharges électriques provoqués par stimulation du complexe nucléaire amygdalien chez le chat. *Rev neurol* 1952; 87: 224-231.

93. Florida FA, Delgado JM. Lasting behavioral and EEG changes in cats induced by prolonged stimulation of amygdala. *Am J Physiol* 1958; 193(1): 223-229.
94. Delgado JM, Sevillano M. Evolution of repeated hippocampal seizures in the cat. *Electro Clin N* 1961; 13(5): 722-733.
95. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology* 1969; 25: 295-330.
96. Bertram E. The relevance of kindling for human epilepsy. *Epilepsia* 2007; 28(suppl. 2): 65-74.
97. Racine RJ, Burnham WM, Gartner JG, Levitan D. Rates of motor seizures development of rats subjected to electrical brain stimulation: strain and interstimulation interval effects. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1973; 35: 553-556.
98. Pinel JPJ, Rover LI. Experimental epileptogenesis: kindling induced epilepsy in rats. *Exp Neurol* 1978; 58: 190-202.
99. Löscher W. Animal models of intractable epilepsy. *Progress in Neurobiology* 1997; 53: 239-258.
100. Garcia ME, Garcia I, Matías J. Modelos experimentales en epilepsia. *Neurología* 2010; 25(3): 181-188.
101. Menini C, Silva B. The photosensitive epilepsy of the baboon: a model of generalizad reflex epilepsy. in: Zifkin B, Anderman F, Beaumanoir A, Editores. *Reflex epilepsies and reflex seizures*. Advances in neurology. Philadelphia: Lippincott Raven; 1998. p. 29-47.
102. Daniel L. Transgenic and Gene Replacement Models of epilepsy: Targeting Ion Cannel and neurotransmission Pathways in mice. In: Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Salomon L. *Epilepsy accounts for a significant portion of the disease burden worldwide*, editors. New York: Murray and Lopez 1994. p. 199-222.
103. Velišek L. Models of Chemically-induced Acute seizures. In: Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Salomon L. *Epilepsy accounts for a significant portion of the disease burden worldwide*, editors. New York: Murray and Lopez 1994. p. 127-151.

104. Lüttjohann A, Fabene PF, Luijtelaar G. A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiology & Behavior* 2009; 98: 579-586.
105. Paxinos G, Watson C. The rat brain. In stereotaxic coordinates. Paxinos G, Watson C, editors.
106. Rutecki P. Anatomical, Physiological, and Theoretical Basis for the Antiepileptic Effect of Vagus Nerve Stimulation. *Epilepsia* 1900; 31 (suppl. 2): 1-6.
107. Wang L and Bradley RM. Influence of GABA on neurons of the gustatory zone of the rat nucleus of the solitary tract. *Brain Research* 1993; 616: 144-153.
108. Treiman DM. GABAergic Mechanisms in epilepsy. *Epilepsia* 2001; 42(suppl. 3): 8-12.
109. Pinault D. The thalamic reticular nucleus: structure, function and concept. *Brain Res Rev* 2004; 46: 1-31.
110. Pantelo T and Corda M. Respiratory-related neurons in the medial nuclear complex of the solitary tract of the cat. *Respir Physiol* 1986; 64(2): 135-148.
111. Walker RB, Easton A and Gale K. Regulation of Limbic Motor Seizures by GABA and Glutamate Transmission in Nucleus Tractus Solitarius. *Epilepsia* 1999; 40(8): 1051-1057.
112. Magdaleno VM, Váldez A, Martínez D, Almazán S, Fernández R, Fernández A. Effect of electrical stimulation of the nucleus of the solitary tract on the development of electrical amygdaloid kindling in the cat. *Epilepsia* 2002; 43(9): 964-969.
113. Magdaleno VM, Váldez A, Martínez D, Almazán S, Fernández R. Preemptive effect of nucleus of the solitary tract stimulation on amygdaloid kindling in freely moving cats. *Epilepsia* 2002; 43(9): 964-969.
114. Comunicación personal.
115. George MS, Rush JA, Harold A, Sackeim and Lauren B. Vagus nerve stimulation (VNS): utility in neuropsychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol* 2003; 6: 73-83.

116. Nashef L, Garner S, Sander JW, Fish D, Shorvon D. Circumstances of death in sudden death in epilepsy: interviews with bereaved relatives. *J Neurol Neurosurg* 1998; 64: 349-352.
117. Langan Y, Nashef L, Sander JW. Sudden unexpected death in epilepsy: a series of witnessed deaths. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 68: 211-213.
118. Feldman, JL and Cohen MI. Relation between expiratory duration and rostral medullary expiratory neuronal discharge. *Brain Res* 1978; 141(1): 172-178.
119. Von E, Hayward JN, Marttila I, and Wyman RJ. Respiratory neurons of ventrolateral nucleus of the solitary tract of cat. Vagal input, spinal connections and morphological identification. *Brain Res* 1973; 61: 1-22.
120. Kobo T and Kihara M. Evidence for the presence of GABAergic and glycine-like systems responsible for cardiovascular control in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neurosci Lett* 1987; 74(3): 331-336.
121. Sved JC and Sved AF. Cardiovascular responses elicited by gamma-aminobutyric acid in the nucleus tractus solitarius: evidence for action at the GABAB receptor. *Neuropharmacology* 1989; 28(5): 515-520.
122. Catelli JM, Giakas WJ and Sved AF. GABAergic mechanisms in nucleus tractus solitarius alter blood pressure and vasopressin release. *Brain Res* 1987; 403(2): 279-289.
123. Sved AF and Tsukamoto K. Tonic stimulation of GABAB receptors in the nucleus tractus solitarius modulates the baroreceptor reflex. *Brain Res* 1992; 592(1-2): 37-43.
124. Doba N and Reis DJ. Acute fulminating neurogenic hypertension produced by brainstem lesions in the rat. *Circ Res* 1973; 32(5): 584-593.
125. Jeffrey TP. Inhibitory neurotransmission in the nucleus tractus solitarius: implications for baroreflex resetting during exercise. *Exp Physiol* 2005; 91: 59-72.
126. Adrienne E, Dorr and Guy D. Effect of Vagus Nerve Stimulation on Serotonergic and Noradrenergic Transmission. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 318(2): 890-898.
127. Krahl SE, Clark KB, Smith DC and Browning RA. Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation. *Epilepsia* 1998; 39(7): 709-714.

128. García NE and Miranda MI. Nucleus of the solitary tract chemical stimulation induces extracellular norepinephrine release in the lateral and basolateral amygdala. *Brain Stimulation* 2012; Short Communication: 1-4
129. Giorgi FS, Pizzanelli C, Biagioni F, Murri L and Fornai F. The role of norepinephrine in epilepsy: from the bench to the bedside. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28(5): 507-524.
130. Kamisaki Y, Hamahashi T, Hamada T, Maeda K, Itoh T. Presynaptic inhibition by clonidine of neurotransmitter amino acid release in various brain regions. *Eur J Pharmacol* 1992;217:57–63.
131. Juhasz C, Chugani DC, Muzik O, Sha A, Asano E, Mangner TJ, Chakraborty PK, Sood S and Chugani HT. α -Methyl-L-tryptophan PET detects epileptogenic cortex in children with intractable epilepsy. *Neurology* 2003; 60: 960-968.
132. Toczek MT, Carson RE, Lang L, Ma Y, Der Spanaki MVMG, Fazilat S, Kopylev L, Herscovitch P, Eckelman WC and Theodore WH. PET imaging of 5-HT1A receptor binding in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2003; 60: 749-756.
133. Coenen AM, Blezer EH and Van Luijtelaar EL. Effects of the GABA-uptake inhibitor tiagabine on electroencephalogram, spike-wave discharges and behaviour of rats. *Epilepsy Res* 1995; 21(2): 89-94.
134. Dedeurwaerdere S, Vonck K, Claeys P, Van Hese P, D'Have M, Grisar T, Naritoku D and Boon P. Acute vagus nerve stimulation does not suppress spike and wave discharges in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg. *Epilepsy Res* 2004; 59: 191-198.
135. Schofield, C.M., Kleiman-Weiner, M., Rudolph, U., Huguenard, J.R. A gain in GABAA receptor synaptic strength in thalamus reduces oscillatory activity and absence seizures. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 2009; 106: 7630-7635.
136. Tan HO, Reid CA, Single FN, Davies PJ, Chiu C, Murphy S, Clarke AL, Dibbens L, Krestel H, Mulley JC, Jones MV, Seeburg PH, Sakmann B, Berkovic SF, Sprengel R and Petrou, S. Reduced cortical inhibition in a mouse model of familial childhood absence epilepsy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 2007; 104: 17536-17541.

137. Gassmann M, Shaban H, Vigot R, Sansig G, Haller C, Barbieri S, Humeau Y, Schuler V, Muller M, Kinzel B, Klebs K, Schmutz M, Froestl W, Heid J, Kelly PH, Gentry C. Redistribution of GABAB(1) Protein and Atypical GABAB Responses in GABAB(2)-Deficient Mice. *The Journal of Neuroscience* 2004; 24(27): 6086-6097.
138. Merlo D, Mollinari C, Inba Y, Cardinale A, Rinaldi AM, Antuono MD, Arcangelo GD, Tancredi V, Ragsdale D and Avoli M. Reduced GABAB receptor subunit expression and paired-pulse depression in a genetic model of absence seizure. *Neurobiol Dis* 2007; 25(3): 631-641.
139. Wang X, Stewart L, Cortez MA, Wu Y, Velazquez JL, Liu CC, Shen L and Shead OC. The circuitry of atypical absence seizures in GABA(B)R1a transgenic mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2009; 94(1): 124-130.
140. Helmers LS, Sheng M, Guérin A, Sarda S, Samuelson TM, Bunker MT, Olin BD, Jackson SD. Clinical outcomes, quality of life, and costs associated with implantation of vagus nerve stimulation therapy in pediatric patients with drug-resistant epilepsy. 2012; 16(5): 449-458.
141. Sherman EM, Connolly MB, Slick DJ, Eyrl KL, Steinbok P and Farrell K. Quality of life and seizure outcome after vagus nerve stimulation in children with intractable epilepsy. *J Child Neurol* 2008; 23(9): 991-998.