



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE PSICOLOGÍA

**ESTIMULACIÓN DEL NERVIOS VAGO
SOBRE CRISIS EPILÉPTICAS EN
RATAS CON LESIÓN DEL NÚCLEO
RETICULAR DEL TÁLAMO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA

P R E S E N T A:

RUBÉN DARÍO CONTRERAS LÓPEZ

JURADO DE EXAMEN:

TUTOR:

DR. VÍCTOR M. MAGDALENO MADRIGAL

COMITÉ:

DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ

DR. EDUARDO ALEJANDRO

ESCOTTO CORDOVA

DRA. LILIA MESTAS HERNÁNDEZ

MTRO. MARTÍN PÉREZ MENDOZA



MÉXICO D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. EPILEPSIA	3
A. Breve historia.....	3
B. Definición y clasificación	5
C. Crisis generalizadas primarias y secundarias	10
1. Epilepsia del lóbulo temporal medial.....	11
2. Epilepsia de ausencia	12
III. MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA	14
A. Modelo genético.....	15
B. Modelo Eléctrico	16
C. Modelo Químico	17
1. Modelo agudo con PTZ.....	20
2. Modelo crónico con PTZ	21
IV. ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIOS VAGO.....	24
A. Anatomía.....	24
B. Antecedentes	25
C. Efecto anticonvulsivo	25
D. Mecanismos anticonvulsivos	26
Planteamiento del problema.....	29
Objetivo general	30
Objetivos particulares.....	30
Objetivos específicos	30
Hipótesis.....	30
V. MÉTODO	31

Sujetos	31
Material	31
Variables	32
Variables dependientes	32
Variables independientes	33
Modelo experimental de crisis epilépticas	34
Procedimiento quirúrgico	35
Procedimiento experimental	35
Diseño experimental	38
Resultados	40
Discusión	49
Conclusiones	53
Consideraciones finales	54
REFERENCIAS	55

Agradecimientos

A mi madre:

“Mi aliento se agota, se acortan mis días, y me está preparado el sepulcro. Dame fianza, oh Dios; sea mi protección cerca de ti. Porque ¿quién querría responder por mí? He aquí, aunque él me matare, en él esperaré; No obstante, defenderé delante de él mis caminos, Y él mismo será mi salvación. ¿Cuántas iniquidades y pecados tengo yo? Hazme entender mi transgresión y mi pecado.”

(Job 17: 1,3; 13: 15, 16, 23 Santa Biblia Reina-Valera).

A mi padre:

“Era forastero en la comarca. Nada se sabía de su origen. Se decía que había llegado al pueblo con muy poco dinero... Y que fue con ese pequeño capital, puesto al servicio de una idea ingeniosa, fecundada por el orden y la inteligencia, que hizo su fortuna y la de todo el pueblo.”

(V́ctor Hugo, Los miserables).

A mi hermano:

“Como la puerta de acceso a la ley permanece abierta, como siempre, y el guardián se sitúa a un lado, el hombre se inclina para mirar a través del umbral y ver así qué hay en el interior. Cuando el guardián advierte su propósito, ríe y dice: Tampoco puedes mirar.”

(Kafka, El proceso.)

A mi Amandine:

“Desde entonces Garcín cambió de carácter. Se volvió charlador, se dio un baño de alegría, compró levita nueva, y comenzó un poema en tercetos titulado, pues es claro: *El pájaro azul*.

Cuando el pájaro canta, se hacen versos alegres y rosados. Cuando el pájaro quiere volar y abre las alas y se da contra las paredes del cráneo, se alzan los ojos al cielo, se arruga la frente y se bebe ajeno con poco agua, fumando además, por remate, un cigarrillo de papel.”

(Rubén Darío, Azul)

Recuerdo los charcos de mi infancia,
los juegos sobre tierra pantanosa,
las horas frente al horno de pan en día de muertos,
un abrazo espontaneo de mi madre y la solemnidad de mi padre.

Recuerdos tan vivos que aún puedo escuchar el eco rebotar en las paredes.

A veces me detengo a escuchar el silencio
me doy cuenta que estoy vivo,
volteo, ella está conmigo,
veo a mi padre y a mi hermano sonreír;
tengo el deseo de no morir.

Camino siempre por la tarde,
el mismo paso, la misma gente,
me inquieta el cambio;
me atemoriza, aún más, la despedida.

Es inevitable dejar gente en el camino,
mas deseo continuar aprendiendo,
beber después de un largo experimento,
al finalizar un seminario atroz.

Escuchen todos, la euforia de un hombre libre,
no lamenten el tiempo ni la sangre,
levanten sus muertos y ofrenden un adiós.

Continuemos con los puños bien cerrados,
Demos lucha a los escollos de la vida,
clavemos una estaca a Dios, Y, si es necesario morir,
no olviden que deseo renacer con ustedes.

En memoria de mi madre

No hay sentimiento más legítimo que el deseo de que me vieras zarpar a este viaje. Sin duda, te recuerdo y te llevo conmigo; en cada sonata, en cada fragmento, en cada sueño. Espero que tu sueño se haya cumplido y algún día nos encontremos para darte las buenas nuevas.

Quiero recordar y dedicar este momento a mis compañeros de viaje, a los que no están, a los que he olvidado, y los que ahora están conmigo.

A LEDURAGO –te esperamos amigo-

Roger, Juve, Saúl, Axel, Adán,

Tania, Pamela, Vane, Angeli,

Denis, Diana, Milton, Luis, Gerard

Christopher, Andy, Gero, Ale.

Agradecer a quienes han influido en mi formación,

Víctor, Valdés, David, Martín, Juventino.

Y, a quienes amo profundamente,

Roberta, Darío, Víctor, Amanda.

ABREVIATURAS

EENV	Estimulación Eléctrica del Nervio Vago
NRT	Núcleo del Tracto Solitario
DEO	Descarga Espiga-Onda
PTZ	Pentilentetrazol
CGA	Crisis Generalizada de Ausencia
CGTC	Crisis Generalizada Tónico Clónica
ELTM	Epilepsia del Lóbulo Temporal
Hip	Hipocampo
Am	Amígdala
EEG	Electroencefalograma
GAERS	<i>Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasburg</i>
WAG/Rij	<i>Wistar Albino Glaxo from Rijswijk</i>
GEPR	<i>Genetic Epilepsy-Prone Rat</i>
ESM	Electrochoque Máximo
NV	Nervio Vago
NTS	Núcleo del Tracto Solitario
NDR	Núcleo Dorsal del Rafe
PBL	Núcleo Parabraquial
LC	Locus Coeruleus
AVVL	Anterior Ventral Lateral
AVDM	Anterior Ventral Dorsal Medial
AMV	Anterior Medial Ventral
B	Núcleo basal de Meynert
EGP	Globo Pálido Externo
CPu	Putamen

RESUMEN

La estimulación eléctrica del nervio vago (EENV) en modelos experimentales de epilepsia ha demostrado tener un efecto anticonvulsivo, sin embargo aún se desconocen los mecanismos a través del cual tiene su efecto. Se ha sugerido que el núcleo reticular del tálamo (NRT) a través del circuito cortical tálamo cortical podría estar participando en el efecto antiepileptogénico.

El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la EENV sobre las crisis convulsivas y no convulsivas provocadas por pentilenetetrazol (PTZ). Se usaron ratas de la cepa Wistar (300grs.) a las que se lesionaron con radiofrecuencia los núcleos reticulares del tálamo (AP - 1.44, L 2.0, DV 6.2). Se implantó un electrodo en el nervio vago izquierdo, así como electrodos hacia el hipocampo (AP -3.6, L 2.0, DV 3.5), el núcleo posterior del tálamo (AP -3.6, L 2.0, DV 5.4) y se colocaron electrodos en los huesos frontales y parietales. La EENV fue administrada continuamente por 60 minutos o intermitentemente (1min on/5 min off). Se administró PTZ en dosis bajas cada 15 minutos hasta conseguir la primera crisis generalizada tónico clónica (CGTC).

Las variables analizadas fueron las DEO; la severidad, latencia, duración, así como las dosis necesarias para la primera CGTC; latencia para estado epiléptico (EE).

La lesión en el NRT abarcó 400 μm . La EENV disminuyó las DEO; retardo y disminuyó la severidad de las CGTC, sin embargo se observó que la lesión en el NRT no permitió el efecto reductor sobre las DEO y aumentó la duración de las CGTC.

Nuestros resultados sugieren que la EENV continua es más efectiva, retarda las CGTC; y que el NRT es parte del mecanismo antiepileptogénico de la EENV.

I. INTRODUCCIÓN

La epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común en el mundo. Se estima que en América Latina hay una prevalencia de 12.4 personas por cada 1000 (Burneo, Téllez-Zenteno y Wiebe, 2005), mientras que en México se calcula una prevalencia de 3.9 personas por cada 1000 (Quet et al. 2011).

Actualmente, la principal terapia es a través de fármacos antiepilépticos, sin embargo más de una tercera parte de los pacientes con epilepsia son refractarios a los fármacos (Marras et al. 2013), y de éstos sólo el 30% son candidatos para neurocirugía de la epilepsia. Por ello, es necesario el desarrollo de terapias alternativas para controlar las crisis epilépticas fármaco-resistentes.

La importancia de desarrollar estrategias terapéuticas para el control de la epilepsia reside en que las personas con este trastorno no sólo tienen repercusiones a nivel individual, también tienen que enfrentarse a los grupos sociales en que se desarrollan y en muchos casos son estigmatizados y desvalorizados debido al impacto visual de sus crisis epilépticas y a la dificultad que tienen los pacientes sin tratamiento para enrolarse a los procesos de intercambio social (Fernández, Snape, Beran y Jacoby, 2011).

La estimulación eléctrica del nervio vago (EENV) es un tratamiento alternativo que ha demostrado disminuir las crisis recurrentes de los pacientes, lo que impacta en mejorar su calidad de vida, sin embargo los mecanismos a través de los cuales tiene su efecto protector aún se desconocen.

En el presente trabajo se probó la EENV sobre crisis generalizadas convulsivas y no convulsivas en ratas que fueron lesionadas en el núcleo reticular del tálamo (NRT), el cual participa en la sincronización cortical y el mantenimiento de ritmos patológicos como las descarga espiga-onda (DEO).

Las crisis epilépticas fueron inducidas con pentilentetrazol (PTZ), un fármaco que al antagonizar la actividad GABAérgica favorece la aparición de crisis generalizadas de ausencia (CGA) y posteriormente se presentan crisis generalizadas tónico-clónicas (CGTC).

II. EPILEPSIA

A. Breve historia

El término epilepsia tiene su origen en Grecia, se deriva de la palabra “*epilambanein*” que significa ser atacado o tomado por sorpresa, la cual hace referencia a las crisis convulsivas que se creía, eran causadas por una forma de demonio o dios. Las primeras evidencias de una crisis epiléptica son del año 2000 a. C., aparecen en un texto encontrado en la región de Mesopotamia que describe a una persona teniendo una crisis convulsiva (Magiorkinis, Sidiropoulou y Diamantis, 2010). Posteriormente, en el siglo XI a. de C. en una tabla babilónica también se describió una crisis epiléptica.

Más tarde, en la tradición hebrea se puede leer que Jesús sanó a una persona con características de epilepsia, al expulsar al demonio que habitaba en esa persona (Chaudhary, Duncan y Lemieux, 2011). Por otro lado, civilizaciones prehispánicas hacen referencia a eventos similares a la epilepsia, un ejemplo de ello es la representación de la diosa mexicana comedora de inmundicias *Tlazolteótl* a quien se ha relacionado con la epilepsia debido a que tiene la boca llena de espuma y sangre, así como sus miembros anteriores torcidos (Rodríguez-Sala y Soriano-Cuevas, 2012). En los vocablos mexicas se puede leer palabras que describen alteraciones motoras relacionadas con la epilepsia, *huapahualiztli* que son alteraciones epilépticas caracterizadas por quietud y convulsiones, *hixcayotl* refiriéndose a alteraciones epilépticas caracterizadas por temblores (Gutiérrez-Moctezuma y Gutiérrez-Cadena, 2009).

Es importante notar que en todos casos se atribuye este trastorno a una entidad sobrenatural; aunque parezca trivial, ha llevado a promover aún en el siglo XXI, actitudes discriminatorias y estigmatización hacia las personas con epilepsia. Por lo tanto, resulta importante la comprensión de los mecanismos subyacentes a las crisis epilépticas y a la epilepsia, así como desarrollar estrategias terapéuticas que ayuden a mejorar la condición de vida de las personas diagnosticadas con epilepsia.

El primer reporte que se tiene sobre el papel del cerebro en la generación de una crisis convulsiva fue en el siglo XVIII a. de C. en el papiro de Smith, texto médico de Egipto, en donde se describe un caso de crisis epiléptica después de un traumatismo craneoencefálico; también se registraron casos en textos médicos babilónicos (Magiorkinis et al. 2010). Más tarde, Hipócrates

argumentó que la epilepsia tenía un origen en el cerebro provocado por exceso de flema que entró en el cerebro.

Un cambio importante en la comprensión de la epilepsia se generó durante el Renacimiento en donde se argumentó que el origen de la enfermedad se debía a partículas químicas. Posteriormente, durante el Siglo de las Luces, el cual estuvo caracterizado por un emergente conocimiento de la anatomía humana, se creyó que el origen de la epilepsia era mecánico, por ejemplo Samuel Tissot en el siglo XVII d. de C. propuso que el cerebro era el único responsable de las crisis epilépticas, el cual contraía y activaba los nervios motores.

Durante el siglo XVII en Inglaterra Marshal Hall propuso la teoría refleja, la cual describía a la epilepsia en central, que tenía su origen en las proyecciones de los nervios eferentes y la teoría periférica con origen en las proyecciones aferentes provenientes del arco reflejo (Eadie, 2007); lo que permitió el inicio de la experimentación con animales. Fue Mauritian Brown Sequard quien en acuerdo con Hall comenzó la experimentación para conocer el papel de los nervios simpáticos.

Hacia finales del siglo XIX y principios del siglo XX, hubo una revolución en la teoría y la práctica sobre la epilepsia siendo Hughlings Jackson la figura central, quien sentó las bases del conocimiento acerca de la epilepsia y la definió como ocasional, repentina, excesiva, rápida y con origen en descargas locales en la materia gris ocasionada por algún daño. Asimismo, Jackson describió en detalle cómo las crisis epilépticas se propagaban de una parte del cuerpo a otras debido a que las descargas en la corteza cerebral se propagaban hacia áreas más amplias (Chaudhary et al. 2011).

Son cuatro los aportes más importantes de Jackson (Shorvon, 2014):

1. El concepto de crisis epiléptica y su origen en la corteza cerebral resultado de descargas de neuronas corticales.
2. El concepto de epilepsia focal y la organización somatotópica de la corteza, lo que daba lugar a que las funciones motoras eran controladas por áreas específicas en la corteza. De ahí que fuera importante tomar en cuenta dónde iniciaba las crisis, debido a que los signos motores podían predecir el origen del foco.

3. La causalidad de las crisis convulsivas. Proponía que las crisis podían ser causa de anomalías nutritivas del sistema nervioso o de saturación de sangre en venas cerebrales.
4. Los estados de conciencia deben de considerarse distintos a los estados cerebrales; esto permitió a Jackson hacer una descripción de las patologías cerebrales basado en su anatomía y fisiología. Ahora se sabe que los estados de conciencia, sí tienen un correlato en estados cerebrales, por ejemplo los niveles de activación que permiten el despertar ubicados en el tallo cerebral y los estados de alerta y atencionales que tienen un correlato en el circuito cortical-tálamo-cortical (Di Perri, Stender, Laureys y Gosseries, 2014).

Por otro lado, David Ferrier contribuyó a los hallazgos de Jackson, ya que fue el primero en realizar investigación en animales sobre la epilepsia y el papel de la corteza en el inicio y propagación de las crisis epilépticas. Ferrier realizó estimulación cerebral y ablación de la corteza para estudiar el fenómeno de la localización cortical, encontró que la porción anterior del cerebro es el centro rector de los movimientos voluntarios y que la epilepsia era el resultado de descargas anormales en estos centros motores (Chaudhary et al. 2011).

B. Definición y clasificación

La epilepsia es un trastorno que compromete el funcionamiento normal del sistema nervioso, dando como resultado alteraciones en el comportamiento, por ejemplo se sabe que entre un 15% - 40% de las personas que cursan con este síndrome también presentan conductas depresivas (LaFrance, Lancman, Machan, Davis y Blum, 2012). Además de alteraciones en el desarrollo de las funciones psicológicas como el aprendizaje, memoria y pensamiento (Lopes et al. 2013).

La epilepsia se caracteriza por interrupciones impredecibles y recurrentes de la función normal del cerebro en donde se presentan descargas anormales del sistema nervioso central con manifestaciones clínicas, además de un aumento en la sincronización cerebral (Fisher et al. 2005).

Es importante considerar los términos epilepsia, crisis, y convulsión como diferentes y no como sinónimos. Una crisis es un síntoma de la función anormal del sistema nervioso central; mientras que la epilepsia es una condición crónica en la que las crisis ocurren de manera repetida. Finalmente, las convulsiones son la manifestación física de una crisis, se caracterizan

por la presencia de contracciones intensas e involuntarias de los músculos esqueléticos; es importante hacer notar que puede haber crisis no convulsivas, es decir, sin contracciones musculares o con fenómenos motores menores (Pérez-Jiménez, García-Fernández, Santiago, Fournier-Del Castillo, 2012), un ejemplo de ello, son las CGA.

La primera clasificación de las crisis epilépticas la realizó Henri Gastaut en 1964, con base en el inicio de las crisis, clasificándolas como parciales o generalizadas, se basó en las manifestaciones clínicas y electroencefalográficas, en los paroxismos inter-ictales, edad de inicio, respuesta a los tratamientos, causas y de acuerdo al conocimiento de los mecanismos patofisiológicos (Korff y Scheffer, 2013).

Más tarde la liga internacional contra la epilepsia (ILAE, por sus siglas en inglés *International League Against Epilepsy*), órgano encargado de clasificar las crisis epilépticas, retomó la clasificación de Gastaut y propuso la clasificación que aún prevalece para el diagnóstico y tratamiento; la clasificación propuesta en 1981 y revisada en 1985. Recientemente, en el 2010, se propuso una nueva clasificación, la cual intenta reclasificar a la epilepsia con base en los hallazgos encontrados con técnicas de neuroimagen funcional y estructural, EEG con mejor resolución, estudios de genética y con base en los mecanismos que hasta ahora se conocen, un ejemplo de ello es el cambio en las categorías que describen la etiología de la epilepsia, los términos idiopático, sintomático y criptogénico fueron reemplazados por, de causa genética, estructural, metabólico o desconocido; sin embargo esta clasificación es complicada en la práctica clínica y el diagnóstico se hace con base en la clasificación de 1985 (Korff y Scheffer, 2013).

Una crisis epiléptica es un evento transitorio con claro inicio y final, determinado por signos y síntomas claros como cambios conductuales y psíquicos acompañados por patrones electroencefalográficos (Fisher et al. 2005), estos cambios conductuales pueden ser afectaciones motoras, sensoriales o autónomas, mientras que los cambios psíquicos pueden relacionarse con cambios en estados emocionales, pérdida de la conciencia, alteraciones cognitivas y manifestaciones somatosensoriales.

En la clasificación de 1985, las crisis epilépticas se abordaron de acuerdo con su inicio u origen, de ahí que se distingan entre generalizadas y focales.

Las crisis generalizadas son aquellas descargas anormales que ocurren en algún lugar dentro del cerebro y que rápidamente se distribuyen y envuelven ambos hemisferios, esta actividad puede incluir estructuras corticales y subcorticales, aunque no necesariamente toda la corteza ni de manera simétrica.

Una crisis focal es aquella que se origina y se propaga dentro de un hemisferio, puede tener su origen en estructuras subcorticales. El origen ictal y su propagación puede tener un claro patrón de una crisis a otra; sin embargo no existe una clasificación de las crisis focales (Berg et al. 2010).

Las crisis pueden dividirse en crisis tónico-clónicas, de ausencia, mioclónica, clónicas, tónicas o atónicas de acuerdo a sus patrones electroencefalográficos, mecanismos patofisiológicos, sustratos anatómicos, signos y síntomas.

En la tabla 1 se muestra la clasificación de las crisis epilépticas de acuerdo a la ILAE (1985).

Tabla 1. Clasificación de las crisis epilépticas
Crisis generalizadas
Tónico-Clónica (en cualquiera de sus combinaciones)
Ausencia
Típica
Atípica
Ausencia con características especiales
Ausencia mioclónica
Mioclonias palpebral
Mioclonica
Mioclonica
Mioclonia atónica
Mioclonia tónica
Clónicas
Tónicas
Atónicas

Crisis focales Desconocidas Espasmos epilépticos
Nota: Las crisis que no pueden ser diagnosticadas dentro de una de estas categorías, deben ser inclasificables hasta más información que permita su diagnóstico exacto.

Un síndrome epiléptico es un desorden epiléptico caracterizado por un conjunto de signos y síntomas que ocurren conjuntamente; se pueden distinguir de acuerdo al tipo de crisis, etiología, anatomía, factores que predisponen las crisis, edad de inicio, severidad, recurrencia y momento del ciclo circadiano en que ocurren las crisis (Wolf, 2006).

Es importante mencionar que dentro de cada síndrome epiléptico las crisis pueden localizarse y distribuirse de manera diferente.

En la tabla 2 se muestra la clasificación de los síndromes epilépticos de acuerdo con la ILAE.

Tabla 2. Síndromes Epilépticos
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 hipocampal

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
Daños 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

C. Crisis generalizadas primarias y secundarias

En la clasificación de la ILAE de 1985 se realizó una distinción de las crisis generalizadas de acuerdo a la localización y procesos patofisiológicos que desencadenaban una crisis. Así surgió la diferencia entre generalización primaria en la que no hay ninguna lesión estructural o desorden intrínseco que inicie la crisis, y la generalización secundaria en donde se asumen las crisis como un síntoma, resultado de una lesión o de una normalidad estructural (Ramsay y DeToledo, 1997).

La epilepsia del lóbulo temporal medial (ELTM) es un ejemplo de crisis generalizadas secundarias, debido a que el foco epiléptico está ubicado en un área limitada del cerebro. Por otro lado la epilepsia de ausencia es un ejemplo de crisis generalizadas primarias, debido a que no hay una estructura específica que desencadene las crisis; aunque se ha propuesto que la corteza es quien inicia la crisis.

1. Epilepsia del lóbulo temporal medial

Dentro de los desórdenes epilépticos, la ELTM es el más común; recibe este nombre debido a que el foco epiléptico se ha ubicado principalmente sobre el hipocampo (Hip) o la amígdala (Am) y puede ser resultado de tumores, malformaciones vasculares, displasias corticales, así como esclerosis del hipocampo (Bertram,2009).

Las manifestaciones clínicas de la ELTM se caracterizan por una sensación de malestar epigástrico, mirada perdida, cambios en el estado de conciencia, automatismos de las manos como rascado nasal ipsilateral al foco epiléptico, sensación de temor, piloerección, ruborización, midriasis, taquicardia, pérdida de la memoria. Estos síntomas clínicos se correlacionan con la aparición de espigas de gran amplitud y aparición de ondas lentas sobre el lóbulo temporal (Volcy-Gómez, 2004).

Desde el punto de vista diagnóstico, el método por excelencia consiste en la monitorización prolongada en video de los cambios conductuales, mientras se registra la actividad cerebral por medio del electroencefalograma (EEG) que permite la evaluación de los potenciales eléctricos generados por la actividad cerebral, a través de electrodos colocados sobre el cuero cabelludo o bien pueden ser electrodos intrusivos colocados dentro del cerebro (López-Trigo, Blanco y Ortiz, 2011). Es así que el comienzo de una crisis epiléptica se ha relacionado con un aumento en la sincronización cortical y aparición de poliespigas; sin embargo las descargas inter-ictales epileptiformes también aportan evidencia clínica.

Bradford (1995) documenta que tanto en modelos experimentales de epilepsia como en humanos se ha encontrado que el sistema glutamatérgico está sobre-expresado, debido a la reducción de la actividad inhibitoria de células GABAérgicas resultado de la pérdida de interneuronas, que son principalmente GABAérgicas.

La importancia de estos neurotransmisores reside en que regulan el control excitatorio e inhibitorio en el sistema nervioso, además de ser los principales mecanismos a través de los cuales actúan los fármacos antiepilépticos, siendo aquellos que actúan sobre el sistema GABAérgico, que sintetizan GABA o que favorecen la transmisión GABAérgica los más investigados (Rowley, Madsen, Schousboe y White, 2012).

2. Epilepsia de ausencia

La epilepsia de ausencia es una forma de crisis generalizada no convulsiva que en humanos se manifiesta con la aparición sincrónica y bilateral de DEO con frecuencia de 3 Hz, sin aura ni periodo post-ictal; se correlaciona con la pérdida súbita de la conciencia, así como automatismos faciales (Castillo, Mendoza, Saavedra y Giordano, 2010).

También se ha observado que los pacientes con epilepsia de ausencia presentan deficiencias en la atención asociado con una disminución en la activación de la corteza medial prefrontal, ello en estudios con resonancia magnética funcional en periodos entre crisis (Killory et al. 2011).

La descarga epileptiforme distintiva de esta forma de epilepsia es la DEO que surge dentro del circuito cortico-tálamo-cortical, con predominancia en el lóbulo frontal, tiene una duración entre 3 y 10 segundos. El inicio de las CGA suele presentarse entre los cinco y siete años de edad, sin embargo en la adolescencia suelen desaparecer estas crisis (Vestal y Blumenfeld, 2010).

Hasta ahora la teoría cortical es la explicación más aceptada, en ella se propone que la corteza es quién inicia el disparo y el tálamo es quien mantiene la actividad oscilatoria (figura 1), se ha propuesto que el NRT participa en el mantenimiento de la DEO, debido a proyecciones GABAérgicas hacia núcleos talámicos de relevo provocando un hiper-polarización en las neuronas de relevo, las cuales activan los canales de calcio tipo T (Bertram, 2013).

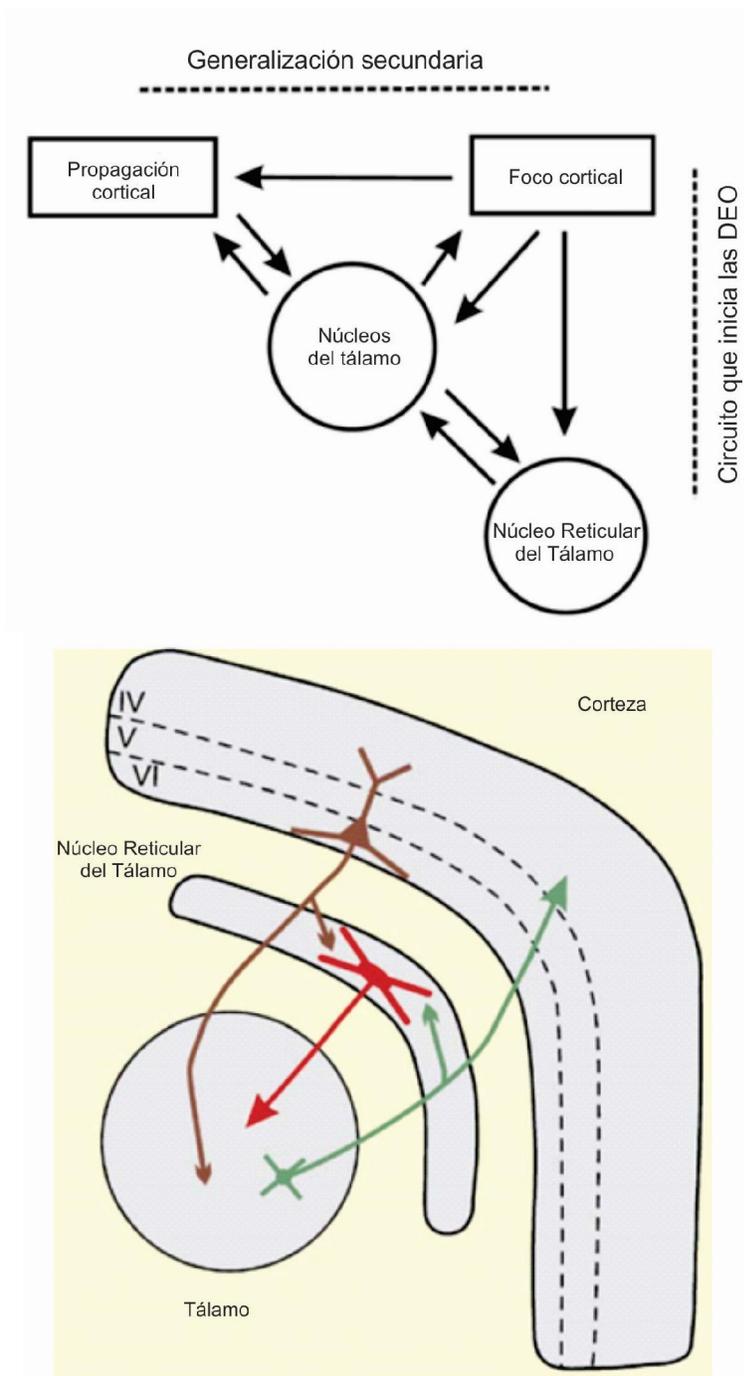


Figura 1. Se puede observar arriba un esquema representativo del mecanismo que participa en la generación y mantenimiento de las DEO, se presenta a la neocorteza como la zona que inicia la descarga patológica, al tálamo como un centro que realimenta las DEO y al NRT un núcleo que participa en el mantenimiento. En la imagen inferior se observa una representación del circuito cortical-tálamo-cortical; en magenta se observan las proyecciones cortico-talámicas, en verde las tálamo-corticales y en rojo las proyecciones hacia el tálamo. Tomada y modificada de Bertram (2013) y Pinault (2011)

III. MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA

La experimentación en animales ha permitido el desarrollo de fármacos antiepilépticos, además de poder identificar áreas en el cerebro que son capaces de desencadenar crisis epilépticas. A pesar de que la experimentación es en animales no humanos, los resultados obtenidos han permitido conocer la dinámica de los cambios cerebrales que desencadenan crisis epilépticas en el humano; lo que ha favorecido el desarrollo de terapias para el control de este trastorno.

Los modelos animales han jugado un papel fundamental en la comprensión de los mecanismos que subyacen la epileptogénesis y la ictogénesis, además de clasificarlos en modelos de epilepsia y de crisis epilépticas (Löscher, 2011) (figura 2).

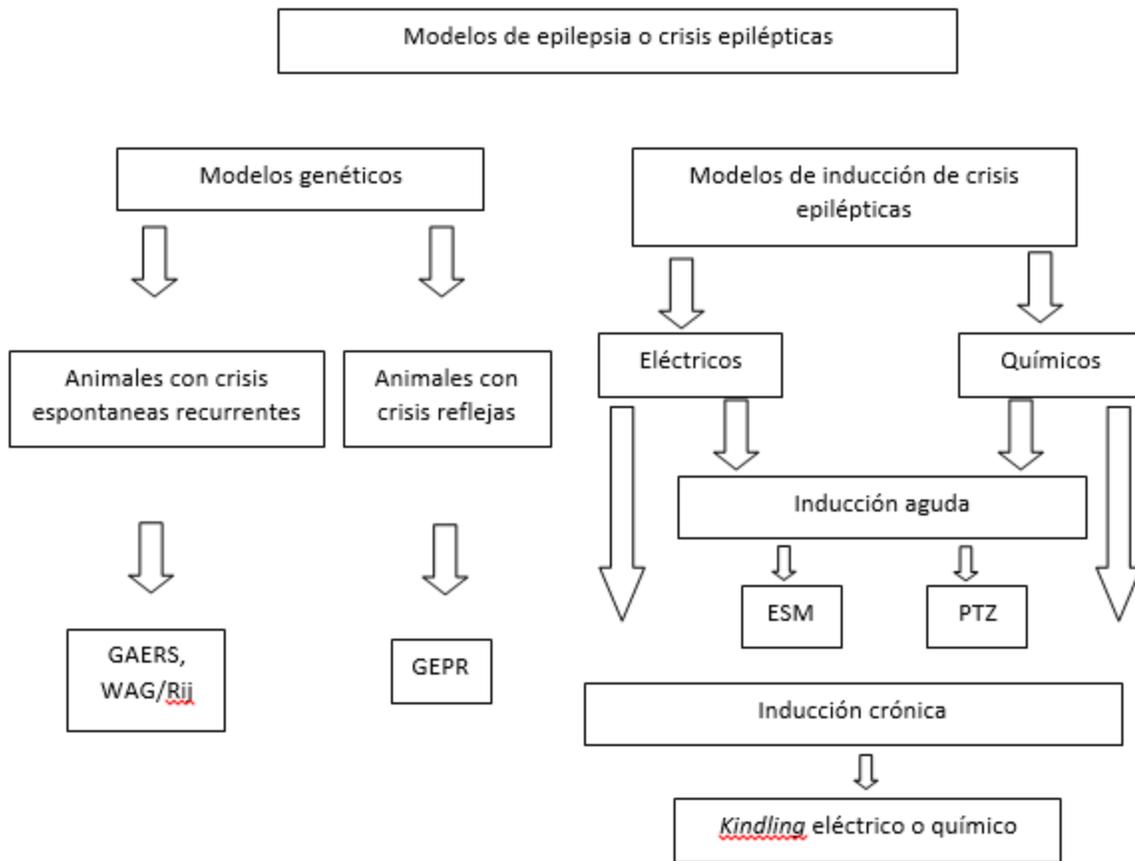


Figura 2. Se puede observar una clasificación acerca de modelos de epilepsia y modelos que inducen crisis epilépticas. Modificada de Löscher (2011).

Los modelos genéticos en los que uno o más genes están involucrados en la generación de una patología, por ejemplo los modelos de CGA por sus siglas en inglés GAERS (*Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasburg*) o las ratas WAG/Rij (*Wistar Albino Glaxo from Rijswijk*), son eficaces para modelar las CGA caracterizadas por interrupciones anormales de la actividad cerebral y pérdida de la conciencia que se relaciona con la presencia de DEO.

Para modelar crisis epilépticas se han desarrollado modelos eléctricos y químicos que pueden ser clasificados de acuerdo a modo de inducción, existen aquellos agudos que son inducidos con una sola dosis o estimulación eléctrica, o los crónicos que son inducidos con dosis o estimulaciones subumbrales, estos últimos permiten poder modelar la propagación gradual de un evento convulsivo y los mecanismos involucrados en la epileptogénesis. El modelo por electrochoque máximo (ESM), el cual consiste en aplicar un estímulo eléctrico necesario para provocar una CGTC, permite modelar crisis convulsivas tónico-clónicas.

Hay modelos crónicos como el *kindling* eléctrico que consiste en aplicar un pulso eléctrico subumbral durante un segundo cada 24 horas, o el *kindling* químico que consiste en aplicar una dosis de fármaco convulsivo cada 24 horas. Estos modelos permiten observar el desarrollo de una crisis focal y su generalización secundaria, además de ser modelos muy empleados para modelar la epileptogénesis.

Finalmente, es importante mencionar que los modelos experimentales de crisis convulsivas deben hacer énfasis en dos elementos o preguntas (Fariello, 1995).

1. Qué tipo de epilepsia generalizada tratamos de mimetizar
2. Para qué propósitos el modelo está diseñado o qué preguntas puede responder apropiadamente.

A. Modelo genético

Las investigaciones en ratas con predisposición genética para desarrollar epilepsia de ausencia GAERS y WAG/Rij, han contribuido para la comprensión de los mecanismos neuronales involucrados debido a que presentan el mismo patrón electroencefalográfico de DEO y conductual que el que se observa en humanos, además de responder a los mismos medicamentos antiepilépticos (Sitnikova, 2009).

Sarkisova y van Luijtelaar (2011) describen que las DEO aparecen en las ratas WAG/Rij entre los 60 y 80 días de edad, siendo a los 6 meses de edad el periodo en el que se presenta mayormente la DEO, presentan una frecuencia entre los 7 y los 11 Hz y duración de 8 segundos, con una amplitud entre 300 a 1000 μ V; esta descarga tiene una relación con el ciclo vigilia-sueño y el nivel de activación, siendo más frecuente en periodos de vigilia pasiva o letargo y menos frecuente durante la vigilia activa o en tareas cognitivas que demanden atención.

En experimentos con ratas WAG/Rij, se ha encontrado que previo a que se observe la primera espiga-onda hay un aumento en el acoplamiento de la señal dentro del circuito cortico-tálamo-cortical, se observó que la corteza inició y dirigió, en los primeros 500 ms, la actividad de algunos núcleos talámicos, y que la porción rostral del NRT tuvo un aumento en el acoplamiento de la señal con el núcleo posterior del tálamo (Luttjohann y van Luijtelaar, 2012). Estos cambios en la actividad oscilatoria sugieren una relación funcional dentro del circuito.

En ratas GAERS se observó que la administración de un antagonista GABA_A dentro del NRT provocó un incremento en la duración de la DEO, lo que sugiere que suprimir el efecto inhibitorio dentro del NRT facilita e incrementa la actividad oscilatoria dentro y en sus eferencias a los núcleos de relevo del tálamo (Aker, Özkara, Dervent y Onat, 2002).

En un trabajo posterior se observó que el NRT tiene efectos diferentes sobre las DEO ya que al antagonizar la actividad GABAérgica dentro de la porción caudal del NRT hubo un aumento en la duración y el número promedio de DEO, mientras que antagonizar la porción rostral provocó una disminución (Aker et al. 2006). Ello sugiere que la porción rostral en un estado patológico es quien está guiando la sincronización de las células de relevo del tálamo hacia la corteza.

B. Modelo Eléctrico

El *kindling* o encendido es un modelo de ELTM caracterizado por la instalación de un foco epiléptico y su posterior generalización, se atribuye a Graham Goddard, Dan McIntyre y Curtis Leech el desarrollo de este modelo, aunque previamente se había demostrado que la estimulación eléctrica, repetida y de baja intensidad en el hip provocaba la aparición de post-descargas que se correlacionaban con manifestaciones motoras, hasta conseguir descargas con componentes tónicos y clónicos (Delgado, y Sevillano, 1961).

Goddard, McIntyre y Leech (1969) realizaron una serie de experimentos con el objetivo de conocer los parámetros de estimulación para desencadenar crisis convulsivas, llegando a la conclusión de que la estimulación repetida de bajo umbral durante un segundo entre 60 y 100 Hz sobre el sistema límbico era la más efectiva para desencadenar crisis convulsivas.

El *kindling* es considerado un modelo de epileptogénesis, debido a que paulatinamente se va propagando el foco epiléptico hasta conseguir una CGTC. En las primeras estimulaciones se pueden observar detenimientos de los animales, automatismos como parpadeo ipsilateral al lugar de estimulación; mientras aumentan los días de estimulación y la propagación del foco, se puede observar que los animales tienen masticaciones, movimientos clónicos de la cabeza, ligeras mioclonias ipsilaterales, mioclonias generalizadas con levantamiento sobre patas posteriores y finalmente pérdida de la postura.

El *kindling* ha sido validado como un modelo de epilepsia humana debido a que cumple con muchas características de la crisis observadas en humanos: 1) la conducta durante los estadios 1 y 2 del *kindling* amigdalino e hipocampal en ratas son similares a las crisis parciales con origen temporal en humanos, 2) los patrones de poli-espigas sobre el EEG son similares a los observados en humanos, 3) los fármacos anticonvulsivos para el tratamiento de las crisis convulsivas en humanos es efectiva cuando se aplica a los animales sometidos a *kindling*, 4) la presencia de espigas inter-ictales en el EEG, 5) los cambios permanentes en la excitabilidad del sistema nervioso que persiste a lo largo del tiempo, y finalmente 6) la efectividad del modelo sobre primates no humanos (Sato, Racine y McIntyre, 1990).

Se ha observado que el *kindling* provoca cambios en los sistemas de neurotransmisores, en los mecanismos presinápticos y postsinápticos, en los mecanismos gliales, en los mecanismos de los segundos mensajeros, alteraciones en el sistema peptidérgico (McIntyre, 2006).

C. Modelo Químico

Existen modelos químicos que replican algunas de las características de la epilepsia o crisis epilépticas en humanos. Los fármacos pueden ser administrados directamente sobre un área cerebral o de manera sistémica a través de la circulación sanguínea, generalmente intraperitoneal.

Los fármacos son agentes excitatorios que pueden bloquear la actividad de neuronas inhibitorias o favorecer la actividad de neuronas excitadoras. Entre estos fármacos podemos

mencionar a aquellos que actúan sobre el sistema glutamatérgico, opiáceo, colinérgico, o GABAérgico.

La pilocarpina es un agonista del receptor para acetilcolina que permite modelar la ELTM, el protocolo típico involucra la administración intraperitoneal entre 350-385 mg/kg, aproximadamente 45 minutos después se pueden observar cambios conductuales y del EEG que corresponden a crisis convulsivas.

El ácido kaínico es un fármaco que actúa sobre el receptor a glutamato favoreciendo la actividad excitatoria, se ha observado que dosis entre 10-18 mg/kg provocan conductas estereotipadas como detenimientos súbitos, movimientos rítmicos de la cabeza, hasta desarrollar crisis convulsivas.

El modelo químico con PTZ, el cual es un fármaco que disminuye la actividad GABAérgica en el sistema nervioso, es un antagonista no competitivo del receptor $GABA_A$ que al interactuar con el sitio de unión a picrotoxina provoca una disminución en la conductividad de los canales de Cl^- (Bazyan, 2002), en consecuencia hay un aumento en la excitabilidad del sistema nervioso que permite recrear crisis epilépticas que pueden ser convulsivas o no convulsivas, dependiendo la dosificación. En la figura 3 se puede observar un esquema del receptor a $GABA_A$ y sus sitios de unión.

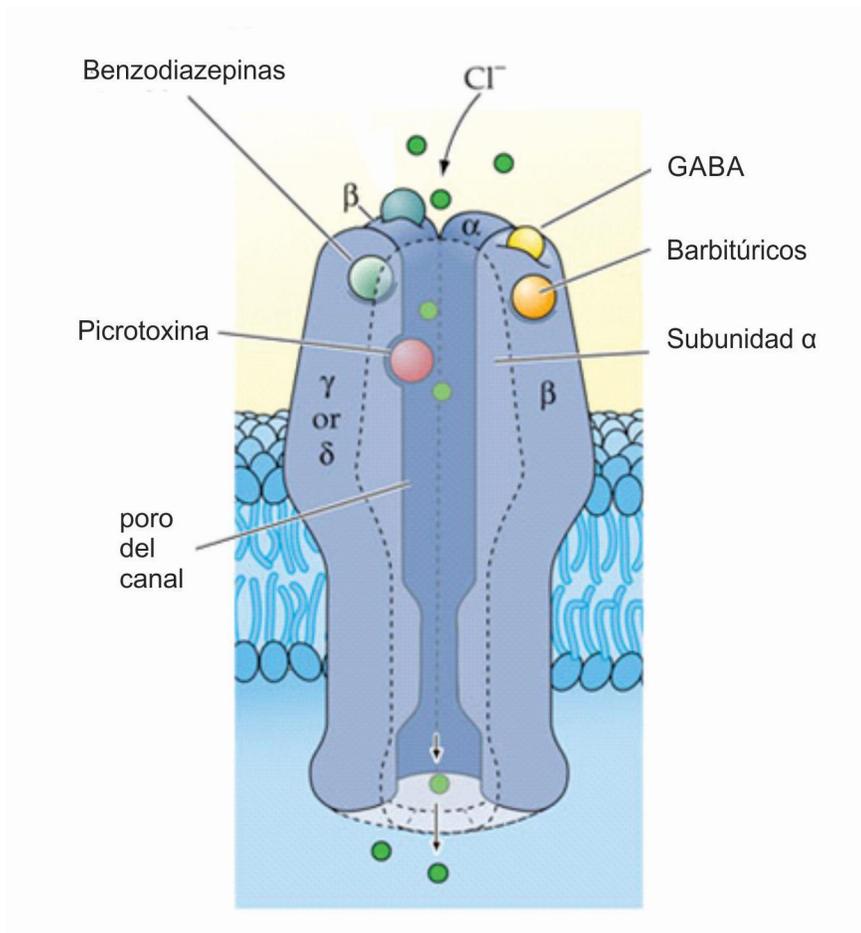


Figura 3. El receptor a GABA_A consiste en cinco subunidades que forman el canal que conduce el ion Cl⁻, también se puede observar los sitios de unión a picrotoxinas, benzodiazepinas, barbitúricos y GABA, los cuales modulan la actividad de este receptor.

Las crisis no convulsivas se desencadenan al administrar dosis entre 20-40 mg/kg en donde se pueden observar DEO, que son características de las crisis no convulsivas o de ausencia, además se pueden observar cambios conductuales que mimetizan los signos y síntomas clínicos que se observan en los humanos. Estos cambios son pérdida de la conciencia, detenimientos súbitos con la mirada fija, ligeros temblores de músculos faciales. Por otro lado, en dosis altas que corresponden a 50 mg/kg, se observa la aparición de crisis convulsivas tónico-clónicas.

El PTZ se ha usado como agente convulsivo desde 1926 (Ramón-Morales et al. 2012), inicialmente fue administrado como un cardio-estimulante, sin embargo por su acción estimulante sobre el sistema nervioso comenzó a usarse como modelo experimental de crisis epilépticas.

Dentro de este modelo existen dos formas de desencadenar las crisis epilépticas, por un lado el modelo agudo que consiste en la aplicación intraperitoneal de una dosis mayor a 50 mg/kg y el modelo crónico que consiste a aplicar dosis subconvulsivas de 20 y hasta 40 mg/kg diariamente, a este modelo se le conoce como *kindling* químico.

1. Modelo agudo con PTZ

La administración de dosis mayores a 50 mg/kg desencadena CGTC, que se caracterizan por la aparición de espigas y poliespigas de gran amplitud de manera sincrónica en el EEG, el cual se correlaciona con pérdida de la postura, movimientos musculares involuntarios bruscos, seguidos de una extensión tónica de las extremidades.

En un modelo agudo en ratas de dos meses de edad Aniol et al. (2013), encontraron que una sola dosis de 70 mg/kg de PTZ provocó un deterioro de la memoria a corto plazo; siendo mayor entre 70 y 90 días y que la latencia para la CGTC fue de dos minutos mientras que la duración de las crisis fue de alrededor de 10 minutos.

Por otro lado, se ha observado que la administración en dosis subconvulsivas reproduce los signos y síntomas de las CGA, mientras que en dosis altas ocurren crisis convulsivas y en dosis superiores se desencadena estado epiléptico (EE), que es la forma más grave de crisis epilépticas (Ito, Hori, Yoshida y Shimizu, 1977).

Se ha observado que la administración, gradual y con intervalos cortos de tiempo, de PTZ favorece la aparición de crisis no convulsivas, convulsivas y EE, la ventaja de este protocolo reside en poder controlar la intensidad y la duración del EE (Nehlig y de Vasconcelos, 1996). En un protocolo de administración con una dosis inicial de 20 mg/kg y posteriores dosis de 10 mg/kg, cada 15 minutos, Luttjohann, Fabene y van Luijtelaa, (2009), lograron caracterizar los cambios en la conducta y EEG durante el desarrollo de una crisis epiléptica; estos cambios se pueden observar en la tabla 3.

<i>Estadios</i>	<i>Severidad de las crisis</i>
1.	Detenimientos suaves y/o detenimientos sin respuesta a estímulos externos.
2.	Sacudidas faciales con temblores en hocico u hocico y ojos.
3.	Sacudidas de cuello.
4.	Crisis clónica en posición sentada.
5.	Convulsiones con crisis tónicas o tónico-clónicas echadas sobre su panza con o sin crisis puramente tónicas.
6.	Convulsiones con crisis tónicas o crisis tónico-clónicas con pérdida de la postura con o sin brincos salvajes.

Tabla 3. Se muestra la relación entre la conducta y el desarrollo de una crisis generalizada, escala modificada de Racine.

2. Modelo crónico con PTZ

Se ha observado que la administración crónica de dosis subconvulsivas sensibiliza el sistema nervioso y disminuye el umbral para desencadenar CGTC.

Al medir la expresión de la proteína c-FOS, la cual permite medir la actividad celular, así como cambios en la expresión génica y su transcripción durante los cambios plásticos neuronales, se ha observado un aumento en el núcleo *accumbens*, corteza prefrontal, piriforme y el estriado durante los estadios 1 y 2 comparado con animales control; durante el estadio 3 y 4 se observó un aumento en el núcleo central de la Am, núcleo lateral septal, sin embargo el cambio más importante se observó durante el estadio 5 en donde se presentó un aumento de la actividad c-FOS en el núcleo central y basolateral de la Am, giro dentado, corteza entorrinal, piriforme y prefrontal (Szyndler et al. 2009). Estos resultados demuestran una progresiva sensibilización de grupos neuronales implicados en la epilepsia, siendo las estructuras del lóbulo temporal medial las que presentan mayor actividad c-FOS durante estadios 4 y 5 que corresponden a crisis generalizadas.

Por otro lado, Maciejak et al. (2010) midieron la concentración de aminoácidos en siete estructuras cerebrales de ratas sometidas a la administración de PTZ en dosis subconvulsivas cada 24 horas hasta conseguir crisis convulsivas, se encontró que hubo un aumento en la actividad de glutamato y alanina en la Am, Hip, así como un aumento de GABA y glutamato en la corteza entorrinal, concluyendo que durante el desarrollo de las crisis hay un progresivo reclutamiento de estructuras límbicas, formando circuitos que favorecen la generalización de las crisis convulsivas.

En otro trabajo, Cremer et al. (2009) encontraron que animales tratados con PTZ cada 48 horas durante 14 días presentaron una disminución en los sitios de unión a kainato, un aumento en los sitios de unión al receptor NMDA en Am, Hip, giro dentado, corteza entorrinal, somatosensorial, granular y piriforme; aunque no hubo diferencias en la densidad a receptores a AMPA, GABA_A y GABA_B supone una desregulación en los sistemas excitadores e inhibidores del sistema nervioso después de una CGTC provocada con PTZ. Figura 4.

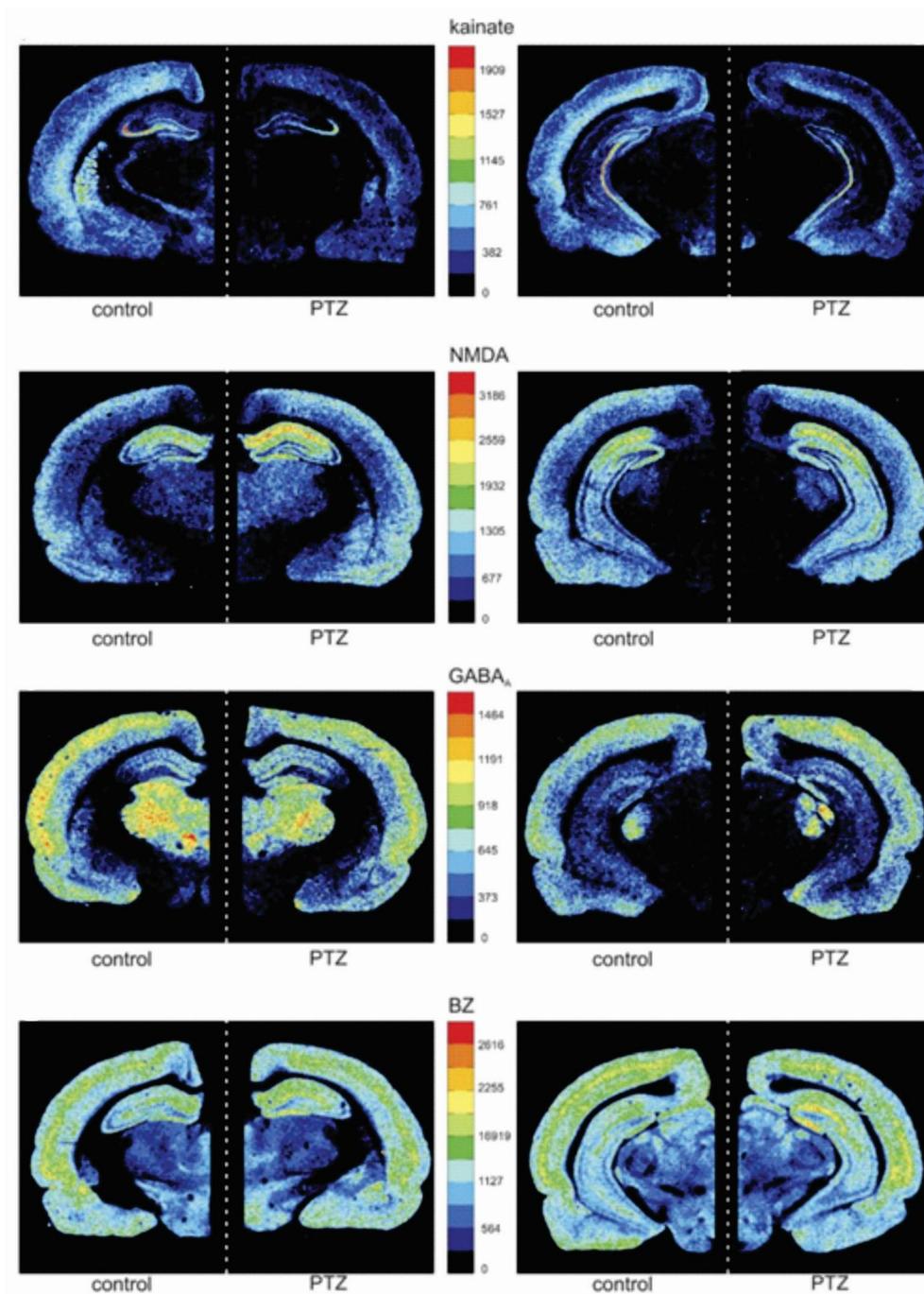


Figura 4. Auto-radiografías a color de los receptores a kainato, NMDA, GABA_A y benzodiazepinas. La barra de colores muestra la densidad de proteína en fmol/mg. Las imágenes de la derecha son los cambios con PTZ comparado con el grupo control a la izquierda. Tomada y modificada de Cremer et al (2009).

IV. ESTIMUALCIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIIO VAGO

A. Anatomía

El nervio vago (NV) es el décimo par craneal, tiene su origen en la médula oblongada y se considera mixto ya que está compuesto de fibras motoras, sensitivas y vegetativas (Krahl y Clark, 2013). El 80% consiste en fibras aferentes. El 90% de estas aferencias y el 70% de las eferencias son fibras tipo C no-mielinizadas, mientras que el resto son fibras mielinizadas A y B (Paintal, 1973).

El principal relevo del NV hacia el cerebro anterior es el núcleo del tracto solitario (NTS), el cual proyecta de manera directa hacia Am (Otterson, 1981; Zardetto, Smith y Gray, 1990), corteza prefrontal (Saper, C.B., 1982), Hip, hipotálamo y núcleo dorsal del rafe (NDR) (Rutecki, 1990) e indirectamente al tálamo mediante el complejo parabraquial (PBL) y al *Locus Coeruleus* (LC) a través de los núcleos paragigantocelular y prepósito del hipoglosos (Ruffoli, 2011). Figura 5.

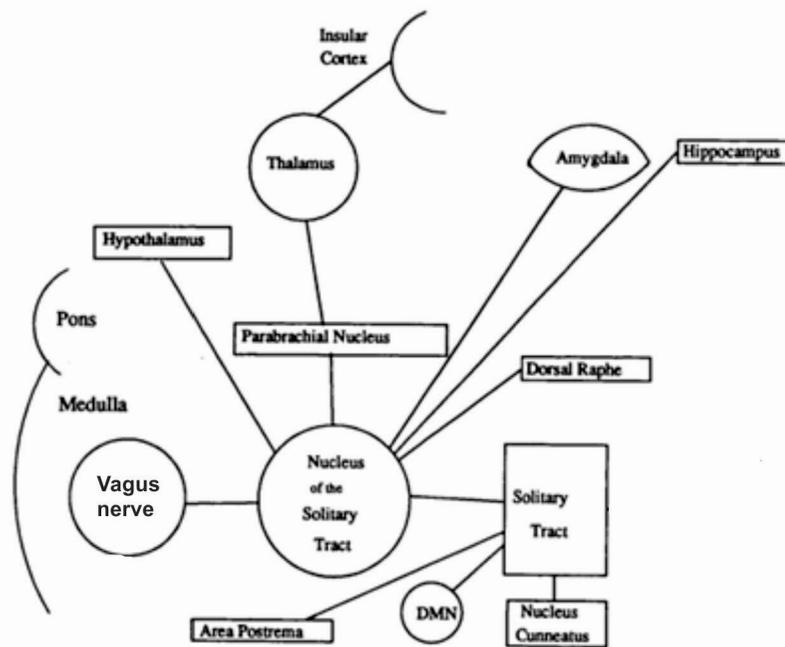


Figura 5. Se muestra una representación esquemática de las proyecciones eferentes del nervio vago. El núcleo del tracto solitario conecta directamente con el hipotálamo hipocampo, amígdala y núcleo dorsal del rafe; de manera indirecta con el tálamo y la corteza. También se observa el núcleo motor dorsal. Tomada y modificada de Rutecki (1990).

B. Antecedentes

Los primeros datos obtenidos en un laboratorio sobre los efectos del NV fueron en 1838 por Volkmann, quien reportó una acción depresora sobre la actividad contráctil del corazón y posteriormente los hermanos Weber en 1845 dieron origen al concepto de “inhibición” (Jiménez-Estrada, 1998).

A finales del siglo XIX, James Leonard Corning, desarrolló una serie de instrumentos para el tratamiento de la epilepsia con base en la teoría propuesta por Hillier Parry en 1792, quien proponía que las crisis convulsivas y las cefaleas eran trastornos causados por un exceso de fluido cerebral. Corning observó que la compresión digital de la arteria carótida tenía un efecto abortivo sobre las crisis. Desarrolló dos instrumentos para la compresión temporal y prolongada de la arteria carótida como tratamiento profiláctico de la epilepsia, también observó otros efectos de la compresión de la carótida en sus pacientes, como midriasis, ptosis, vértigo, somnolencia, confusión, síncope y deglución. Posteriormente, combinó la compresión arterial con la aplicación transcutánea de corriente directa al NV y los nervios simpáticos cervicales. Encontró que esta combinación tenía los mismos efectos sobre la epilepsia que la compresión de la carótida sola. Corning, en 1884, concluyó que este tratamiento tenía un gran valor terapéutico para la epilepsia (Lanska, 2002).

C. Efecto anticonvulsivo

Se ha demostrado el efecto anticonvulsivo de la EENV en modelos de crisis parciales complejas, crisis generalizadas y modelos experimentales de epilepsia del lóbulo temporal (Aalbers et al. 2011). Así como su efecto antiepiléptico, en un modelo de EE (Treiman, 2007). Sin embargo, en un modelo genético de CGA, Dedeurwaerdere et al. (2004), observaron que las DEO aumentaban su duración después de la estimulación aguda del NV.

Los primeros trabajos que mostraron efectos antiepileptogénicos utilizando la EENV, Zanchetti, Wang y Moruzzi (1952) mostraron que la EENV tenía efectos inhibitorios en un modelo experimental de epilepsia en la corteza frontal del gato.

Woodbury y Woodbury (1990), probaron el efecto de la EENV sobre las crisis inducidas por metrazol, electrochoque máximo y ácido 3-mercaptopropiónico en la rata. Mostraron que las crisis se inhibieron con frecuencias de 10-20 Hz, pulsos de 0.5-1 ms y con intensidades de 0.2-

0.5 mA/mm². Estos resultados relacionaron las fibras del tipo C con el efecto anticonvulsivo de la EENV. Sin embargo, Krahl, Senanayake y Handforth (2001) reportaron que la destrucción de las fibras C no alteró la supresión de las crisis epilépticas provocadas por la EENV.

Zabara (1992) sugirió que la EENV podía ser efectiva para prevenir las crisis convulsivas en pacientes farmacológicamente intratables. Encontró una inhibición parcial y total de las crisis cuando utilizaba frecuencias de 30-100 Hz, pulsos de 0.2-1.0 ms; estableció que los parámetros con mayor eficacia anticonvulsiva se presentaron con frecuencias de 20-30 Hz, pulsos de 0.2 ms y corrientes de salida de 3.5-7 mA.

Con el modelo de *kindling* amigdalino, Fernández-Guardiola et al. (1999) comprobaron la eficacia de la EENV, mostrando que ésta retarda la generalización de las crisis epilépticas, su duración y frecuencia, además de que no presentaron una evolución progresiva. En este mismo modelo, Rijkers et al. (2009) estimularon el NV de manera aguda, en ratas con epilepsia en un intento por mimetizar las condiciones clínicas, encontrando una reducción de la duración de las crisis y un aumento en la latencia para las crisis generalizadas.

En la práctica clínica, se ha encontrado que la efectividad de la EENV incrementa en relación al tiempo de estimulación. Elliot et al. (2011) hicieron un seguimiento a 65 pacientes con EENV encontrando que después del primer año con EENV hubo una disminución del 52.1% de la crisis epilépticas, además mostraron que la efectividad de la EENV comienza a ser estable después de dos años de estimulación, llegando a reducir las crisis epilépticas en un 75.5% a los 10 años de estimulación.

Resultados similares encontraron Haiyang et al. (2009) en un seguimiento de tres años con ocho pacientes con epilepsia refractaria, mostraron que la efectividad de la EENV comienza a ser significativa al año de estimulación reduciendo en 62.5% la frecuencia de las crisis epilépticas; de manera interesante también reportaron que durante los primeros seis meses de estimulación no hay cambios significativos en la reducción de las crisis epilépticas.

D. Mecanismos anticonvulsivos

El efecto antiepileptogénico del NV se da a través de las proyecciones hacia el cerebro anterior, siendo los sistemas serotoninérgicos, noradrenérgicos y GABAérgicos los principales involucrados en el efecto antiepileptogénico.

Weiss, Lewis, Jiménez-Rivera, Vigil y Corcoran (1990) mostraron que la estimulación eléctrica del LC retrasa las crisis convulsivas experimentales, y que el agotamiento de la noradrenalina (NA) facilita el proceso del *kindling*. Más tarde, Krahl, Clark, Smith y Browning (1998), mostraron que la inactivación temporal del LC con lidocaína suprimía el efecto anticonvulsivo de la EENV.

Raedt et al. (2011), estimularon el NV e inyectaron pilocarpina de manera tópica en el Hip izquierdo para provocar crisis epilépticas, encontrando que ésta provocaba un decremento en la latencia para la aparición de las primeras crisis así como en la duración de éstas; para comprobar que el mecanismo implicaba las vías noradrenérgicas se administró un antagonista de NA y el efecto de supresión de las crisis se vio revertido. Estos resultados sugieren que el efecto anticonvulsivo de la EENV puede ser por un aumento en la liberación de NA, globalmente o en algunas estructuras específicas del cerebro.

Walker, Easton y Gale (1999), demostraron que el aumento en la neurotransmisión GABAérgica o la disminución en la neurotransmisión glutamatérgica en la porción medial del NTS reduce la gravedad de las crisis límbicas provocadas por la aplicación tópica de metrazol o bicuculina en el área *tempestas*, así como las provocadas sistémicamente. Esto sugiere que la EENV puede cambiar el balance relativo de excitación/inhibición en el NTS, en el cual el componente inhibitorio puede ser más prominente por la estimulación repetida.

Magdaleno-Madrigal et al. (2002), demostraron que la estimulación eléctrica del NTS de manera concomitante con el *kindling* eléctrico amigdalino en el gato, provocó un retardo en la generalización de la actividad convulsiva. Encontraron que el efecto anticonvulsivo de la estimulación eléctrica del NTS es de larga duración; posteriormente estimularon la porción medial por seis días, previo a la estimulación en Am, y encontraron que también provocaba un efecto protector en la propagación del *kindling* amigdalino. De manera contraria, la estimulación en el área tegmental lateral, aceleraba el proceso de *kindling* y provocaba mayor tiempo en la postdescarga (Magdaleno-Madrigal et al. 2010).

Por otro lado, se sabe poco acerca de la participación que el NRT en los mecanismos anticonvulsivos de la EENV, en un trabajo anterior se había reportado que la EENV promovía la expresión de ARN mensajero que codificaba para la subunidad alfa 1 del receptor GABA en el NRT (Zhang y Zhang, 2002), en un modelo genético de CGA se observó que la EENV promovía

la aparición de las DEO (Dedeurwaerdere et al. 2004) y recientemente se observó en un modelo de *kindling* en gatos que la EENV cuando se administra durante el 1er estadio, en la escala de Racine, tiene efectos antiepiléptogénicos, sin embargo este efecto se pierde si se administra en estadios posteriores, además de que se correlacionó con la aparición de DEO (Magdaleno-Madrigal et al. 2014). Por otro lado se sabe que gran parte de las aferencias hacia la corteza pasan a través del tálamo y que el NRT es un importante núcleo que participa en la sincronización de la actividad cortical a través del tálamo (Pinault, 2004).

La efectividad de la EENV se ha explicado a través de proyecciones del tallo cerebral hacia la corteza, sin embargo no hay trabajos que describan de qué manera se modifica el efecto antiepiléptogénico de la EENV cuando el NRT, parte del circuito cortical-tálamo-cortical, está lesionado.

Nuestro trabajo pretende explicar cómo se modifica la efectividad del NV sobre crisis convulsivas y no convulsivas cuando el NRT ha sido lesionado previamente.

Planteamiento del problema

La epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común en el mundo que afecta a individuos de todas las edades, se estima que 50 millones de personas la padecen en el mundo (Banerjee, Filippi y Hauser, 2009), mientras que en México se calcula una prevalencia de 3.9 personas por cada 1000 (Quet et al. 2011); y más de una tercera parte de estos pacientes son refractarios a los fármacos (Marras et al. 2013).

Actualmente, la EENV es una terapia alternativa que ha demostrado tener efectividad para disminuir las CGTC en pacientes refractarios (Haiyanget al. 2009), sin embargo, aún se desconocen los mecanismos a través de los cuales tiene su efecto, así como qué parámetro de estimulación (continua o intervalos) es más efectivo sobre crisis epilépticas. Se ha observado que después de la EENV hay un aumento en la densidad de receptores de GABA_A en la corteza (Marrosu, et al. 2003), por otro lado, el NRT se ha relacionado con la generación de ritmos patogénicos como las DEO, además de ser la principal fuente de proyecciones GABAérgicas dentro del circuito cortico-tálamo-cortical, sin embargo se desconoce si el NRT es parte del mecanismo antiepileptogénico de la EENV.

El presente trabajo pretende conocer si la lesión del NRT interfiere con el efecto antiepileptogénico de la EENV, qué efecto tiene sobre crisis convulsivas y no convulsivas, y qué papel tiene el NRT en el efecto antiepileptogénico de la EENV.

Objetivo general

Analizar el efecto que tiene la EENV sobre las crisis no convulsivas y convulsivas provocadas por PTZ, y la relación que guarda el NRT como parte del mecanismo antiepileptogénico de la EENV.

Objetivos particulares

1. Identificar los cambios conductuales posteriores a la EENV
2. Identificar los cambios conductuales posteriores a la lesión del NRT rostral
3. Analizar la relación que guarda la lesión del NRT sobre el efecto antiepileptogénico y anticonvulsivo de la EENV

Objetivos específicos

1. Describir el efecto de la estimulación continua sobre el número de DEO, la latencia, duración y severidad de las CGTC
2. Describir el efecto de la estimulación intervalos sobre el número de DEO, la latencia, duración y severidad de las CGTC
3. Cuantificar el efecto de la lesión del NRT sobre el número de DEO, la latencia, duración y severidad de las CGTC
4. Describir el efecto de la EENV sobre el estado epiléptico

Hipótesis

1. Las ratas con EENV presentarán un aumento en el número de DEO
2. Se observará un retraso en la aparición de la CGTC, así como su duración en las ratas que recibieron EENV
3. La severidad de la CGTC será menor en ratas con EENV comparado con las ratas control
4. La EENV continua tendrá un efecto más robusto sobre las CGTC y las DEO comparado con la EENV a intervalos
5. El efecto de la EENV será menos robusto en ratas con lesión sobre el NRT

V. MÉTODO

Todos los experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación de la Dirección de Investigaciones en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, se siguieron las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación NOM-062-ZOO-1999.

Sujetos

El estudio se realizó en ratas macho de la cepa Wistar de entre 280 y 320 g de peso, nacidas y criadas en el bioterio del Instituto. Tuvieron acceso a comida y agua *ad libitum*, con ciclo luz/oscuridad de 12 horas y temperatura constante de 22 °C. Todos los experimentos se llevaron a cabo entre las 10:00 y las 17:00 h.

Material

- Electrodo bipolares de acero inoxidable manufacturados a la medida
- Tornillos de acero inoxidable para registro epidural
- Generador de lesión por radiofrecuencia Radionics
- Estereotáxico y torres David Kopf
- Cera de hueso
- Acrílico dental Nic-Tone
- Conectores a medida hembra y macho
- Instrumentos para cirugía
- Hidrocloruro de ketamina
- Hidrocloruro de xilacina
- Pentobarbital sódico
- Amplificadores Grass modelo 78D
- Estimulador Grass S88
- Unidad de aislamiento Grass
- Interfase sistema Adq8ch
- Sutura estéril Seda Negra Trenzada 6-0 Atramat

- Computadora de registro DELL
- Software Adq8ch para análisis de señal EEG
- Cámara de video Sony *Cybershot W320* adaptada a una tarjeta digital de PC para almacenar los videos en una computadora PC
- Micrófono Leica
- Paquete estadístico SPSS versión 15

Variables

Variables dependientes

Descarga espiga onda (DEO): descarga epileptiforme característica de las CGA, se caracteriza por una espiga (despolarización) de gran amplitud con duración alrededor de 40 ms y una onda (hiperpolarización) de baja amplitud con duración de 100 ms.

Se tomó en cuenta la aparición de un conjunto de descarga espiga-onda con duración igual o mayor a un segundo; que su amplitud fuera el doble que la actividad basal del EEG, y que se correlacionara con detenimientos en la rata. En la figura 6 se muestra un ejemplo representativo de la DEO que se tomó en cuenta para el análisis.

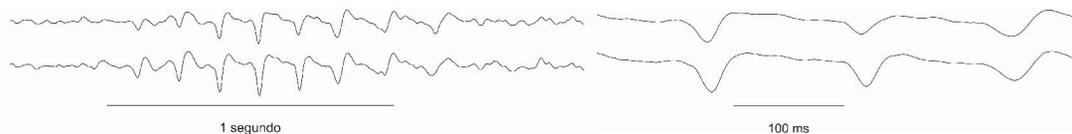


Figura 6. Se muestra un trazo representativo de la descarga espiga-onda durante la administración de PTZ.

Severidad de la CGTC: se refiere a la relación entre los cambios en la conducta y el EEG durante el desarrollo de la crisis generalizada tónico-clónica. Existe una relación entre las descargas paroxísticas y sus correlatos clínicos, a mayor duración, amplitud y complejidad morfológica la severidad es mayor.

Se tomó en cuenta la relación de los estadios conductuales de acuerdo a la escala modificada de Racine y el inicio de la crisis generalizada.

Latencia de la CGTC: es el periodo comprendido entre la administración de la primera dosis de PTZ y el inicio de la CGTC.

Latencia para EE: es el periodo comprendido entre la administración de la primera dosis de PTZ y el inicio del estado epiléptico. Se define como una condición epiléptica aguda que se mantiene durante cinco minutos o más, caracterizada por crisis continuas o intermitentes sin que el animal logre recuperarse o responda a estímulos entre crisis.

Se consideró el tiempo intervalo entre la aplicación de la primera dosis de PTZ y la aparición de una crisis generalizada con duración mínima de cinco minutos sin que el animal lograra recuperarse o responder a estímulos.

Número de dosis de PTZ para desencadenar CGTC y EE: el número de dosis para desencadenar una crisis generalizada o estado epiléptico. Se consideró el acumulado de dosis necesarias para que el animal desarrollara la CGTC.

Variables independientes

Lesión de la porción rostral del NRT: es un daño o destrucción de una porción del tejido cerebral. La lesión por radiofrecuencia consiste en el paso de corriente alterna de alta frecuencia por medio de la punta de un electrodo dirigida al núcleo diana, el calor producido por la corriente destruye el tejido alrededor del electrodo.

Se consideró lesión, cuando el tejido alrededor del electrodo había desarrollado gliosis, lo que indica que hubo un daño en el tejido y que células gliales proliferaron como resultado del mismo.

EENV intermitente: consiste en la aplicación de impulsos eléctricos sobre el NV, con una frecuencia de 30 Hz, ancho de pulso de 0.5 ms, con una corriente de salida entre los 1.4 mA y 2.8 mA, con un protocolo ON de 60 segundos y OFF de cinco minutos; el estímulo se repite 10 veces. Esta estimulación produce contracciones abdominales, reflejo de masticación, bostezos y cambios sobre la frecuencia respiratoria.

En el experimento se consideró la aplicación de 10 trenes de EENV, se observó que los animales tuvieron cambios en la frecuencia respiratoria, presentaron contracciones abdominales, reflejo de masticación y bostezos.

EENV continua: consiste en la aplicación de impulsos eléctricos sobre el NV, con una frecuencia de 30 Hz, ancho de pulso de 0.5 ms, con una corriente de salida entre los 1.4 mA y 2.8 mA, con un protocolo ON de 60 minutos continuos, sólo se administró un tren. Esta estimulación produce contracciones abdominales, reflejo de masticación, bostezos y cambios sobre la frecuencia respiratoria.

En el experimento se consideró la aplicación de un tren de EENV, se observó que los animales tuvieron cambios en la frecuencia respiratoria, presentaron contracciones abdominales, reflejo de masticación y bostezos.

Dosis de PTZ: consiste en la administración vía intraperitoneal del fármaco convulsivo a una relación de 10 mg/kg diluida en 1 ml de solución salina. Después de la primera dosis se pueden observar cambios en el EEG y conducta relacionados con la instalación de una crisis epiléptica.

Se consideró una dosis inicial de 20 mg/kg diluida en 2 ml de solución salina y las posteriores fueron de 10 mg/kg. Se observó la relación entre los cambios conductuales y el EEG de acuerdo a la escala modificada de Racine.

Modelo experimental de crisis epilépticas

La aplicación sistémica de PTZ, antagonista GABA_A, en dosis bajas desencadena CGA, mientras que en dosis altas se observan CGTC.

En este experimento se administró una dosis inicial de 20 mg/kg, considerado el tiempo cero, y posteriormente se administraron dosis de 10 mg/kg con intervalos de 15 minutos hasta conseguir la CGTC.

Este método permite observar la evolución conductual y paroxística de las crisis generalizadas. En las primeras dosis se pueden observar las CGA con su componente DEO, y con dosis acumuladas se pueden apreciar espigas de gran amplitud que se correlacionan con mioclonias y posteriormente la aparición de las CGTC.

En la tabla 3 se muestra la intensidad de las crisis generalizadas de acuerdo a la escala modificada de Racine (Luttjohannet al. 2009), los estadios 1, 2 y 3 corresponden a crisis generalizadas no convulsivas, mientras que los estadios 4, 5 y 6 corresponden a crisis generalizadas convulsivas.

Procedimiento quirúrgico

Las cirugías se llevaron a cabo en ratas anestesiadas con una mezcla de ketamina (100 mg/kg) y xilacina (100 mg/kg). Una vez terminada la cirugía, las ratas fueron colocadas de forma individual en cajas de acrílico (50 cm x 27 cm x 30 cm) para su recuperación por 7 días.

Las ratas fueron divididas aleatoriamente en tres grupos: 1) grupo lesión (n=4), se lesionó con radiofrecuencia durante 10 minutos con un voltaje de 5 volts los núcleos reticulares del tálamo (AP -1.44, L 2.0, DV 6.2); 2) grupo sham (n=4), sólo se dirigieron los electrodos a las mismas coordenadas durante 10 minutos sin prender el lesionador; 3) grupo control (n=4), sólo se implantaron tornillos de registro epidurales en huesos frontales y parietales. A los animales de los grupos lesión y sham se les implantó un electrodo –diseñado en nuestro laboratorio- en el NV izquierdo; posteriormente se implantó estereotáxicamente electrodos hacia el Hip (AP -3.6, L 2.0, DV 3.5), y el núcleo posterior del tálamo (AP -3.6, L 2.0, DV 5.4). Finalmente se colocaron tornillos de registro epidurales en los huesos frontales y parietales. Todo el conjunto se soldó a un conector macho y se fijó al cráneo con acrílico dental.

Procedimiento experimental

Después del periodo de recuperación, las ratas fueron llevadas a una caja de registro en donde se administró la EENV intermitentemente (1min on/5 min off) o continuamente durante 60 minutos. Posteriormente se administró PTZ en dosis bajas cada 15 minutos hasta conseguir la primera CGTC.

Los animales se registraron bajo las siguientes condiciones experimentales: día 1, sólo ENV intermitentemente; día 2, ENV intermitentemente + PTZ; día 3, ENV continua + PTZ; día 4, sólo PTZ. En la figura 7 se muestra una relación temporal sobre las condiciones experimentales.

El registro EEG se realizó durante todo el experimento, se utilizaron filtros de 3-100 Hz. La señal fue adquirida mediante un amplificador GRASS 78D, digitalizada mediante un sistema de adquisición Adq8 diseñado en nuestro laboratorio (Fernández-Mas et al. 1998, Valdés-Cruz et al. 2008) para uso específico, finalmente la señal se almacenó en una unidad de disco duro para su análisis fuera de línea.

Una vez terminado el experimento las ratas recibieron una dosis letal de pentobarbital sódico, posteriormente recibieron perfusión intracardiaca con solución salina al 0.9% y buffer de fosfatos con formol 10% para fijar el cerebro. Finalmente se extrajo el cerebro y se almacenó para su verificación histológica.

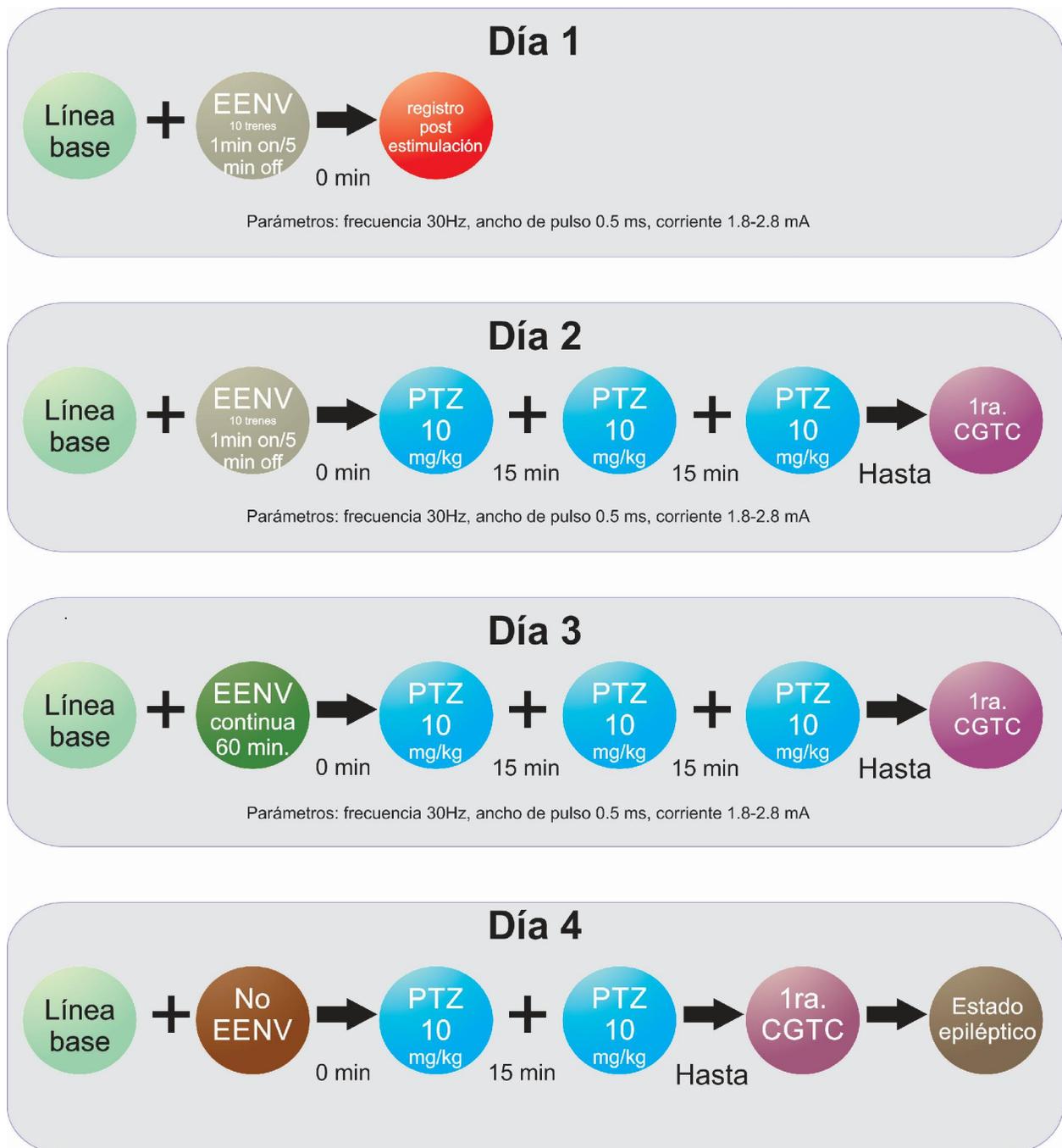


Figura 7. Se muestra la relación temporal durante el experimento. Cada grupo fue sometido a las mismas condiciones experimentales, durante el día 1 y 2 se observa la condición de EENV intermitente, para el día 3 las ratas recibieron EENV continua y finalmente, el día 4 ninguna rata recibió EENV. Todos los grupos durante el día 2, 3 y 4 recibieron PTZ en dosis bajas hasta conseguir la 1ra CGTC. Durante el día 4 fueron llevadas hasta estado epiléptico.

Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental factorial (diseño con dos o más variables independientes) mixto (inter-grupos e intra-grupos).

El experimento se realizó con tres grupos, llamados control, lesión y sham; cada grupo recibió tres condiciones de tratamiento, EENV intermitente, EENV continua, sin EENV, en la tabla 4 se observa un esquema del diseño.

Se utilizó ANOVA para comparar las medias, para cada tratamiento, entre-grupos e intra-grupos de las siguientes variables dependientes: latencia para 1ra CGTC y EE, número de dosis para CGTC y EE, severidad de las CGTC; para determinar si había diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos se consideró un valor de $P < 0.05$.

		<i>Tratamientos</i>		
		EENV intervalos	EENV continua	Sin EENV
<i>Grupos</i>	Control	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
	Sham	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
	Lesión	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}

Tabla 4. Se observan los grupos y los tratamientos para el análisis estadístico ANOVA, se realizó un análisis entre grupos e intra grupos.

Para analizar el efecto de los tratamientos sobre las DEO entre-grupos e intra-grupos se utilizó ANOVA de medidas repetidas, en la tabla 5 se observa un esquema del diseño. Consistió en medir el número de DEO para cada intervalo entre dosis de PTZ dentro de cada sujeto, posteriormente se compararon las medias poblacionales con las condiciones tratamientos, grupos y dosis de PTZ; para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos se consideró un valor de $P < 0.05$.

Factores

	Grupo	Día	dosis
<i>Sujeto 1</i>	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$
<i>Sujeto 2</i>	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$
<i>Sujeto 3</i>	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$
<i>Sujeto 4</i>	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$	$G_n - D_n - d_n$

Tabla 5. Se observan los factores que se compararon para el ANOVA de medidas repetidas, se observa el factor grupo “G” (control, lesión, sham), día “D” (EENV intermitente, EENV continua, sin EENV) y dosis “d” (primera, segunda y tercera dosis). Cada sujeto tuvo las mismas condiciones experimentales.

Resultados

Histología

10 animales del grupo lesión recibieron corriente alterna de alta frecuencia dirigida al NRT en la porción rostral, sólo en 4 animales la posición del electrodo estuvo en sitio. En la figura 8 se observa un corte coronal con tinción de Nissl de 40 μm a 1.44 mm posterior a bregma, se puede observar el NRT, que rodea al tálamo ventral, a lado del núcleo basal de Meynert, globo pálido externo y putamen. En los recuadros rojos se puede identificar la lesión, se mira un color más profundo característico de la proliferación de glía, en un acercamiento con microscopio se puede apreciar el daño tisular.

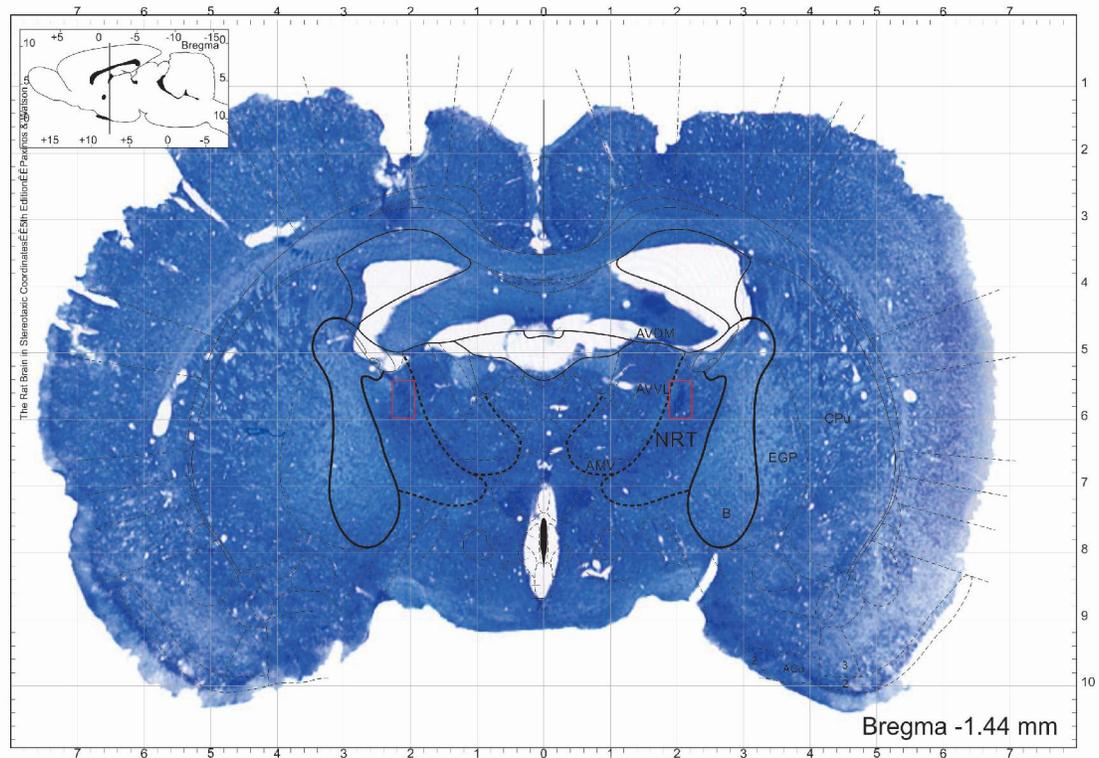


Figura 8. Se observa un corte coronal de rata, se aprecia el NRT rodeando al tálamo ventral en la porción anterior ventral lateral (AVVL), anterior ventral dorsal medial (AVDM), anterior medial ventral (AMV); a un contado se observan los ganglios basales, núcleo basal de Meyert (B), globo pálido externo (EGP) y putamen (CPu). En el recuadro rojo se observa la lesión en la porción rostral del NRT. Referencias cartesianas tomadas del atlas de rata de Paxinos y Watson.

Conducta

Los animales sometidos a cirugía del NV presentaron ptosis ipsilateral al implante del NV. Ninguna rata tuvo complicaciones con la cirugía del NV durante el experimento completo. Durante la estimulación del NV se observó reflejo de masticación, bostezos, contracciones abdominales y un aumento en la frecuencia respiratoria. Estas respuestas se observaron tanto con la EENV intervalos, como la EENV continua.

Influencia de la EENV sobre la DEO

Día 1 EENV intervalos sin PTZ

Después de la EENV intervalos, se observó que las ratas de los grupos lesión y sham permanecieron la mayor parte del tiempo durmiendo después de la EENV. Las ratas del grupo control no recibieron EENV ya que sólo se implantaron tornillos de registro y no se les implantó electrodo en el NV.

Día 2 EENV intervalos con PTZ

La latencia promedio para la primera DEO fue de 150 ± 34 segundos y estuvo acompañada de detenimientos súbitos en las ratas.

Durante la primera dosis de PTZ se observó un mayor número promedio de DEO en las ratas del grupo lesión (27.66 ± 23.17) que las ratas del grupo sham (25.00 ± 27.09) y las ratas del grupo control (20.75 ± 23.18). Para la segunda dosis se observó promedio similar de DEO entre las ratas del grupo lesión (62.33 ± 32.77) y las ratas del grupo control (62.50 ± 40.50), mientras que las ratas del grupo sham (40.00 ± 20.46) presentaron menos. Durante la tercera dosis de PTZ, las ratas del grupo control presentaron un aumento en el número de DEO (125.33 ± 20.25) en comparación con las ratas del grupo lesión (93.25 ± 40.66) y las del grupo sham (51.00 ± 44.00) (figura 9).

Día 3 EENV continua con PTZ

Todas las ratas presentaron DEO, la latencia promedio para la 1ra DEO fue de 133.18 ± 28 segundos.

Durante la primera dosis, las ratas del grupo control (51.75 ± 26.13) presentaron más DEO comparado con las ratas de los grupos lesión (36.50 ± 20.01) y sham (38.75 ± 26.13), durante la segunda dosis se pudo observar un aumento en el número de DEO para todos los grupos, control (88.00 ± 36.10), sham (74.00 ± 29.87) y lesión (63.50 ± 34.45). Sin embargo siguió observándose el aumento por parte del grupo control. Durante la tercera dosis se observó que las ratas de los grupos lesión (90.50 ± 25.88) y control (115.75 ± 26.04) tuvieron un aumento de DEO con respecto a la dosis anterior; no así para las ratas del grupo sham (45.25 ± 46.17) que presentaron una disminución de DEO comparado con las ratas lesión y control y con respecto a la dosis anterior (figura 9).

Día 4 Sin EENV con PTZ

Todas las ratas presentaron DEO. Se observó que la primera DEO apareció en promedio a los 124.50 ± 36 segundos.

Durante la primera dosis de PTZ se observó que las ratas del grupo sham (48.00 ± 30.73) tuvieron un número mayor de DEO comparado con las ratas de los grupos lesión (35.25 ± 17.45) y control (48.00 ± 30.73), para la segunda dosis se observó una disminución de DEO en las ratas del grupo sham (46.50 ± 26.71) comparado con las ratas de los grupos control (47.00 ± 19.79) y las del grupo lesión (66.50 ± 19.42), finalmente esta misma tendencia se observó durante la tercera dosis para todos los grupos sham (43.25 ± 45.18), control (94.00 ± 22.62) y lesión (99.50 ± 24.42) (figura 9).

Para verificar el efecto de la EENV y la interacción de los factores día, grupo y dosis de PTZ, se realizó un análisis de medidas repetidas. Se encontró que la condición día influye de manera significativa ($F_1=109.390$, $P < 0.001$) sobre la DEO, al comparar la intersección día-grupo también hubo diferencia estadística ($F_2=62.959$, $P < 0.001$), se aprecia que la EENV a intervalos y continua incrementó el número de DEO, se pudo observar que la EENV continua desencadenó mayormente la aparición de DEO, sin embargo la condición de no estimulación también produjo un aumento sobre las DEO, esto puede ser explicado por el efecto acumulado de las EENV anteriores. Por otro lado, se encontró que la condición dosis influye de manera significativa ($F_2=20.801$, $P < 0.004$) sobre el número de DEO, esto significa que las dosis acumuladas de PTZ favorecen la aparición de DEO, sin embargo el grupo sham fue el que menos cambios tuvo en el número de DEO (figura 9).

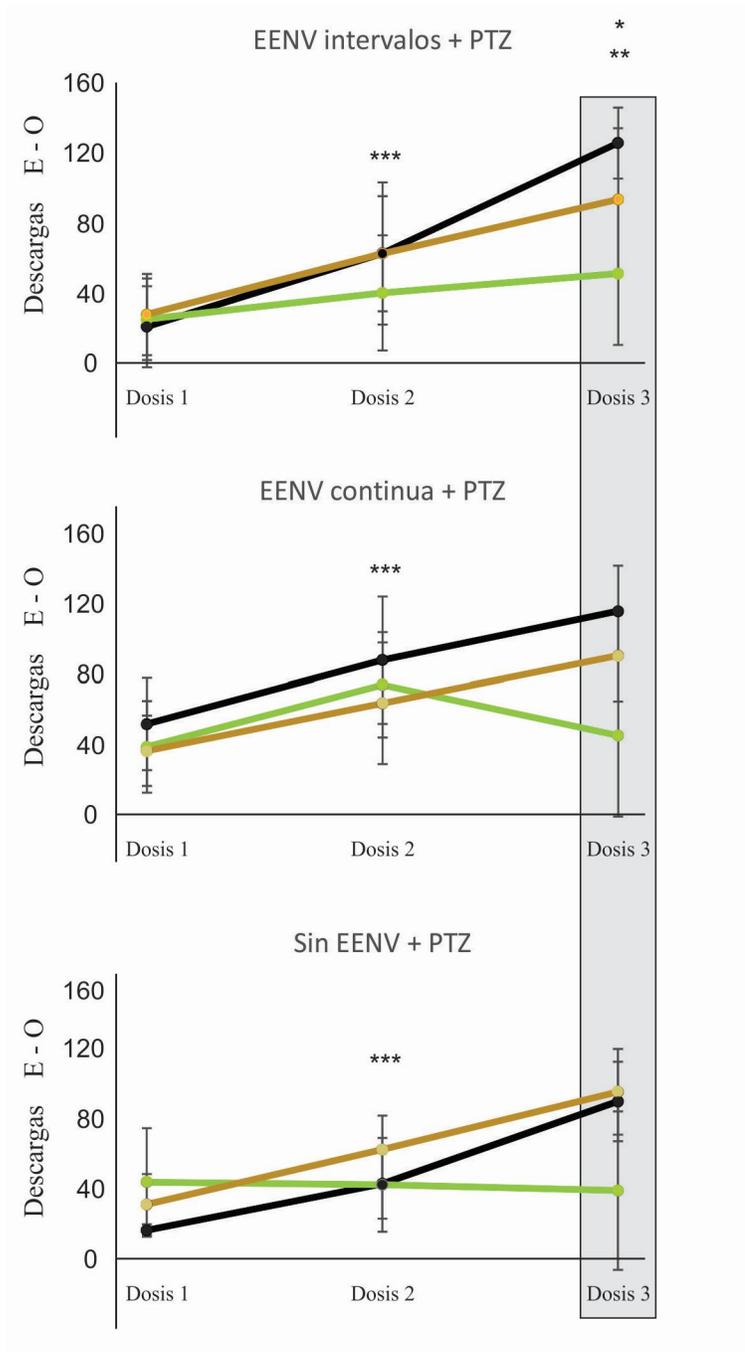


Figura 9. Se compara en negro grupo control, en marrón grupo lesión, verde grupo sham. Se observa que la condición dosis influye significativamente ($F_2=20.801$, $*** P < 0.004$) sobre el número de DEO, se observa un aumento en el grupo control y lesión. La condición día también influye significativamente ($F_1=109.390$, $* p < 0.001$), al comparar la intersección día-grupo también mostró diferencia estadística ($F_2=62.959$, $** P < 0.001$) sobre la aparición de la DEO. Se observa en el grupo control que el número de DEO disminuye a lo largo de los días, mientras que en el grupo lesión el número de DEO va aumentando de un día a otro. En el grupo sham no se observa esta tendencia. Se realizó ANOVA de medidas repetidas para el análisis.

Influencia de la EENV sobre la CGTC

Dosis para la primera CGTC

El protocolo de administración de PTZ para cada día consistió en administrar una dosis cada 15 minutos hasta que desarrollaran una CGTC. El número de dosis permite conocer los cambios en la irritabilidad del sistema nervioso provocado por la administración del fármaco convulsivo.

Durante el segundo día de protocolo, se observó que los animales del grupo control requirieron más dosis para desarrollar la CGTC comparados con las ratas de los grupos lesión y sham.

Durante el tercer día se observó una diferencia significativa entre las ratas del grupo control y las ratas del grupo sham ($F_{2,10} = 6.685$, $P < 0.014$), en donde las ratas del grupo control requirieron más dosis. Para el cuarto día se observó una diferencia significativa entre el grupo control y sham ($F_{2,8} = 6.267$, $P < 0.029$) en donde las ratas del grupo control requirieron más dosis para desencadenar la CGTC, no así para el grupo lesión (figura 10).

Al hacer una comparación intra grupos se observó que las ratas del grupo lesión en el día 3 ($F_{2,9} = 10.50$, $P < 0.045$) y en el día 4 ($F_{2,9} = P < 0.004$), en el segundo día requirieron más dosis de PTZ para desencadenar la primera CGTC, un efecto similar se observó aunque no fue significativo en las ratas del grupo sham, mientras que en las ratas del grupo control no se observó este efecto. Este resultado podría deberse a que el efecto protector de la EENV es dependiente del tiempo (figura 10).

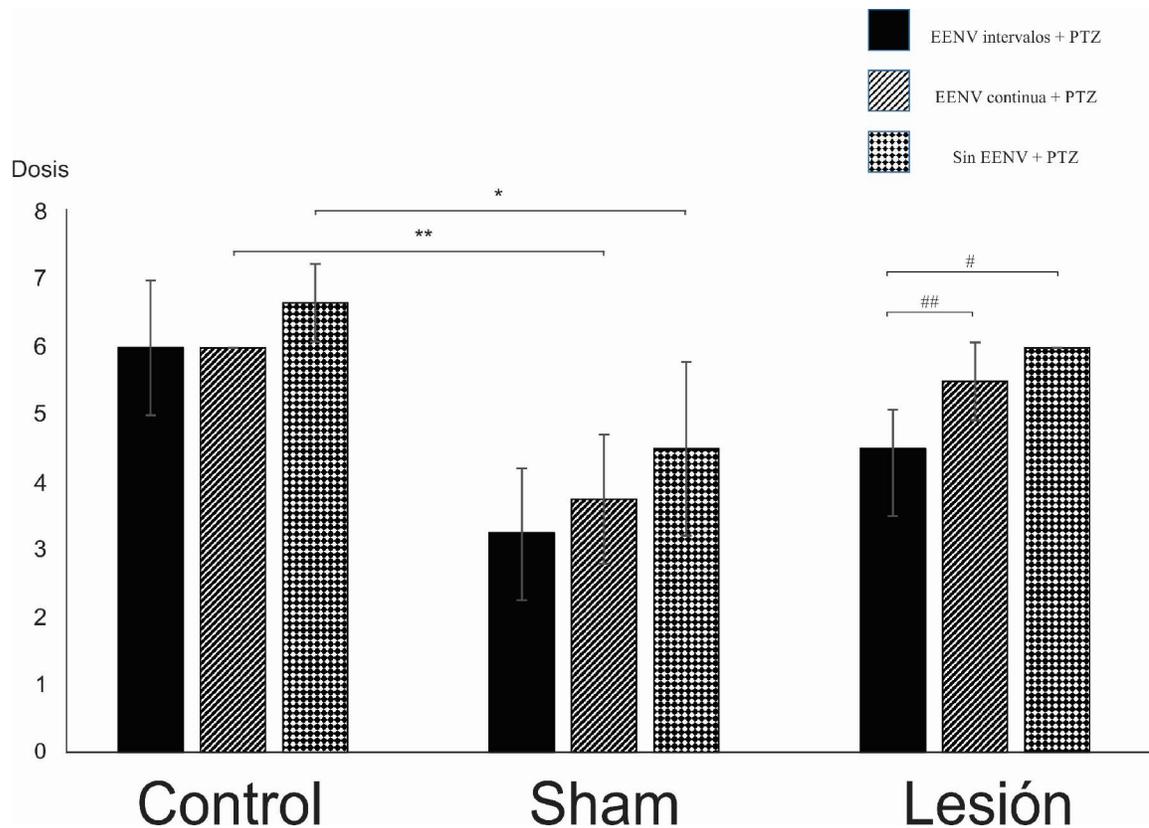


Figura 10. Se muestran el número de dosis promedio para desarrollar la 1ra CGTC. Se observó que sólo dentro del grupo lesión la condición de EENV tenía efectos significativos ($F_{2,9} = 10.50$, $## P < 0.045$ y $F_{2,9} = \# P, < 0.004$) sobre el número de dosis de PTZ para la 1ra CGTC. Al comparar entre grupos se observó que las ratas control requerían más dosis que las sham ($F_{2,10} = 6.685$, $** P < 0.014$ y $F_{2,8} = 6.267$, $* P < 0.029$). Se realizó ANOVA para el análisis estadístico.

Latencia para la primera CGTC

Durante el segundo día de protocolo no se encontraron diferencias significativas en la latencia para la CGTC entre los grupos, no así para el tercer y cuarto día, en donde se observó que la latencia para la 1ra CGTC fue mayor durante el 3er día para el grupo control en relación con el grupo sham ($F_{2,10} = 7.636$, $P < 0.009$), de igual manera durante el 4to día ($F_{2,8} = 7.756$, $P < 0.017$) (figura 11).

Al realizar el análisis dentro de los grupos se observó que en las ratas de los grupos sham y lesión la latencia fue aumentando a través de los días, siendo significativo para el grupo lesión; en la figura 11 se observa que la latencia aumentó de manera significativa del día 3 al día 2 ($F_{2,9} = 0.002$, $P < 0.023$) y del día 4 al día 2 ($F_{2,9} = 0.002$, $P < 0.001$). Este cambio se puede deber a que la EENV podría estar retardando la generalización de las CGTC, hecho que se observa

también en las ratas del grupo sham aunque no de manera significativa. De manera contraria en el grupo control no se observó esta tendencia, lo que respalda la hipótesis de que la EENV a través del tiempo tiene efectos protectores contra las CGTC.

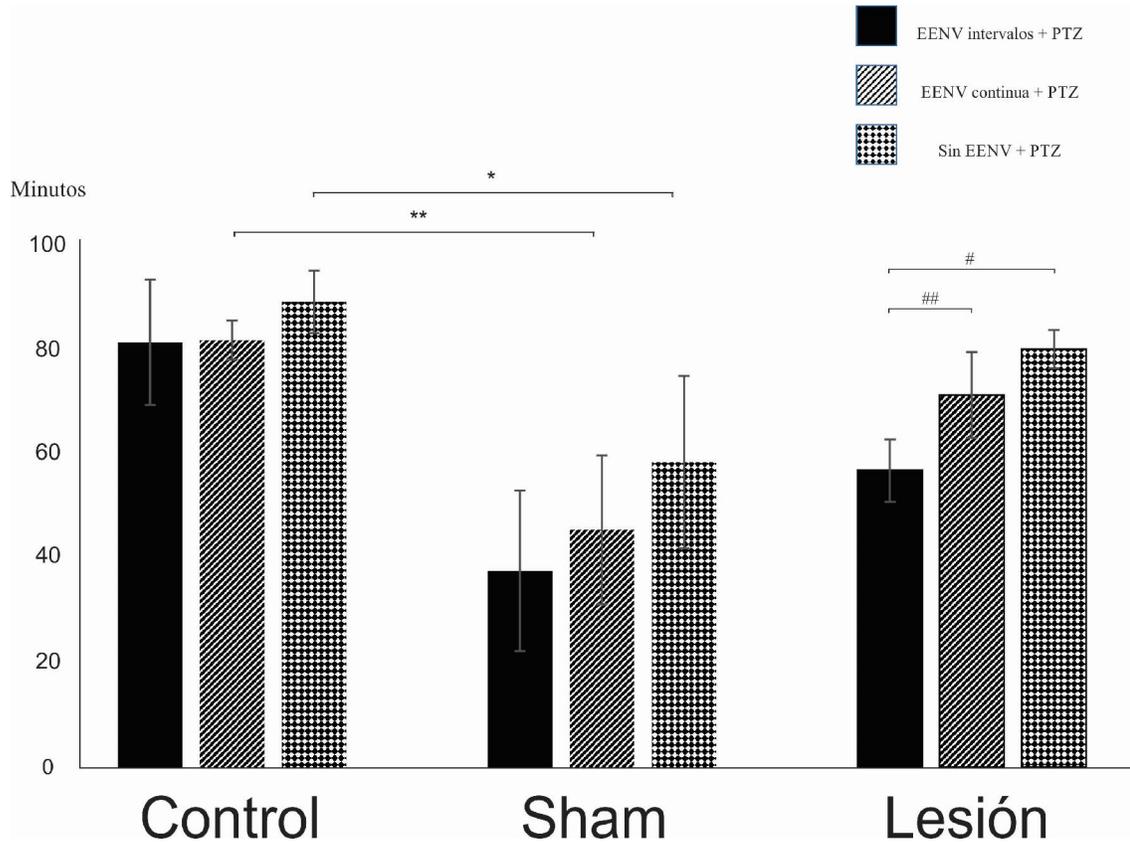


Figura 11. Se muestran la latencia promedio para desarrollar la 1ra CGTC. Se observó que sólo en el grupo lesión la condición de EENV tuvo efectos significativos ($F_{2,9} = 0.002$, $## P < 0.023$ y $F_{2,9} = 0.002$, $\# P < 0.001$) sobre la latencia para la 1ra CGTC. Al comparar entre grupos se observó que la latencia fue mayor para el grupo control comparado con el sham ($F_{2,10} = 7.636$, $** P < 0.009$ y $F_{2,8} = 7.756$, $* P < 0.017$). Se realizó ANOVA para el análisis estadístico.

Duración de la 1ra CGTC

Cuando se comparó la duración de la 1ra CGTC para el segundo, tercer, y cuarto día no se observaron diferencias significativas entre grupos ni intra grupos. El hecho de que sólo haya habido cambios sutiles dentro de los grupos en la duración de la CGTC revela que la condición de EENV intervalos o continua no influye sobre la duración de las CGTC (figura 12).

Se observa que el grupo lesión tuvo una mayor duración de la CGTC comparado con el grupo control y el grupo sham, aunque no de manera significativa, sin embargo las CGTC de los grupos lesión y sham fueron menos severas, lo que sugiere que la duración y la instalación de las CGTC tienen mecanismos diferentes.

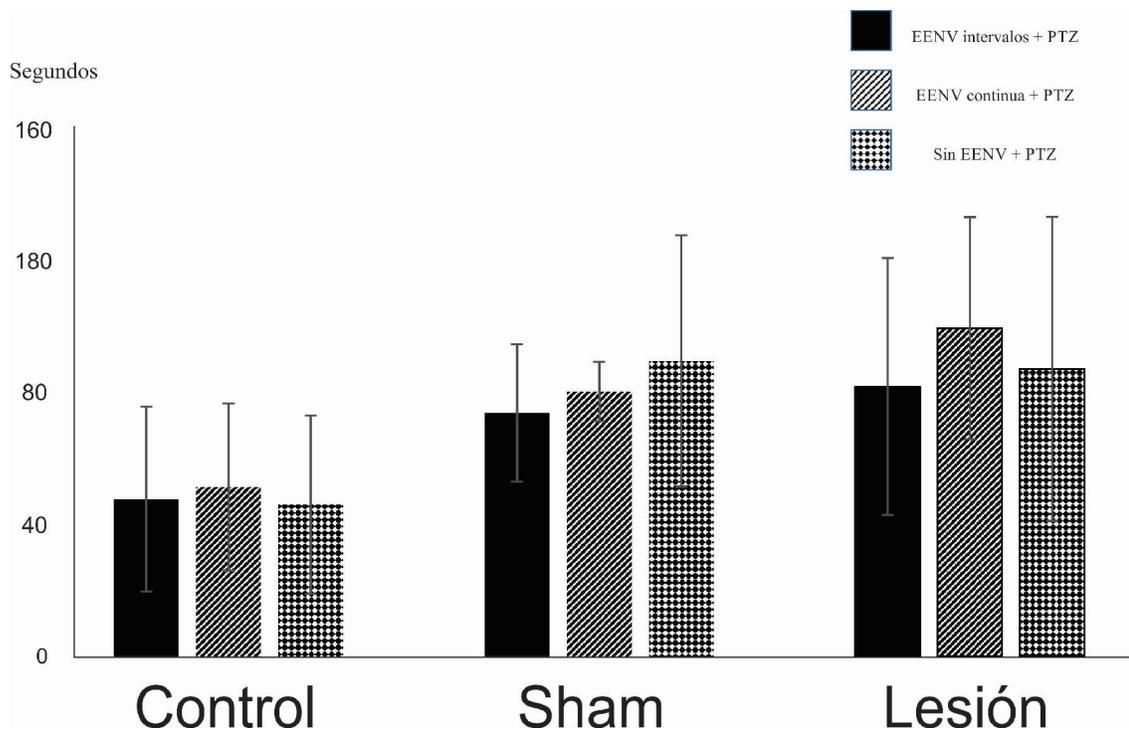


Figura 12. Se muestra la duración promedio de la primera CGTC. No se observaron diferencias significativas entre ni intra grupos.

Severidad de la CGTC

Al evaluar la severidad de la 1ra CGTC según la escala modificada de Racine, se pudo observar que dentro del grupo control hubo más ratas que presentaron un estadio 6, el cual es el estadio más severo. Por otro lado, en la tabla 6 se muestra que dentro de los grupos sham y lesión hubo menos ratas que presentaron estadio 6 durante la EENV continua comparado con el control.

Se observó que ninguna rata con EENV murió, ni en el segundo, ni en el tercer día de protocolo, contrario al grupo control en donde dos ratas murieron durante el tercer día de protocolo.

Severidad de la 1ra CGTC escala modificada de Racine

	EENV intervalos				EENV continua				Sin EENV		
	Est 4	Est 5	Est 6	Muerte	Est 4	Est 5	Est 6	Muerte	Est 4	Est 5	Est 6
<i>Control</i>	2	1	2	0	0	0	5	2	0	1	2
<i>Sham</i>	1	1	2	0	1	1	2	0	1	1	2
<i>Lesión</i>	3	0	1	0	0	2	2	0	0	1	3

Tabla 6. Los números representan la cantidad de ratas durante cada día que tuvieron un estadio 4, 5 o 6 dentro de una CGTC.

Influencia de la EENV sobre el EE

Durante el cuarto día, el protocolo consistió en continuar administrando dosis de PTZ hasta que los animales tuvieran EE. El análisis consistió en comparar la latencia y el número de dosis necesarias para que los animales tuvieran EE. En la figura 13 se observa que no hay diferencias significativas ni en la latencia ni en el número de dosis de PTZ para conseguir el EE.

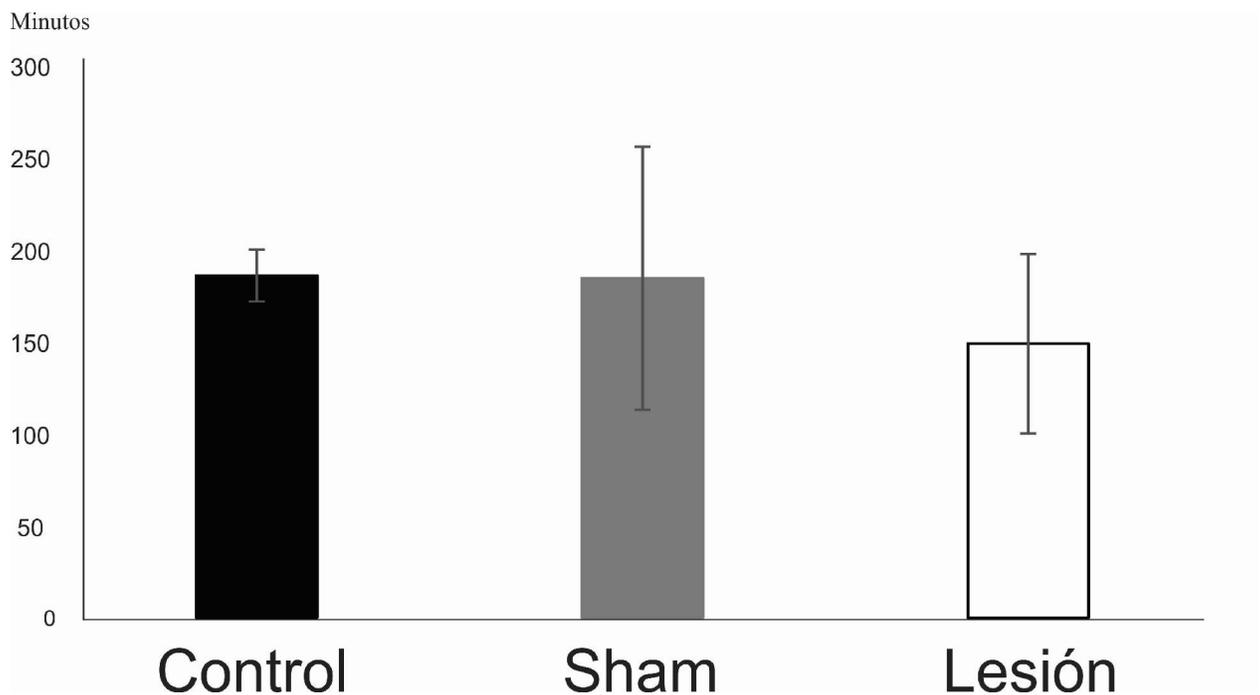


Figura 13. Se muestra la latencia para conseguir el estado epiléptico para cada grupo, no se observaron diferencias significativas.

Discusión

El presente trabajo se diseñó para observar el efecto agudo de la estimulación continua y a intervalos del NV sobre las DEO y CGTC en ratas previamente lesionadas en el NRT. Se observó que la EENV aumenta las DEO de manera progresiva en el curso temporal, este efecto puede ser un mecanismo protector contra las CGTC ya que observamos un aumento en la latencia, así como en el número de dosis de PTZ necesarias para la aparición de la primer CGTC.

La EENV ha mostrado tener efectos anticonvulsivos en humanos (Elliott, et al. 2011; Haiyang, et al. 2009) y en modelos experimentales de epilepsia (Aalbers, et al. 2011), en humanos la efectividad se ha relacionado con cambios en la actividad GABAérgica en la corteza (Marrosu, et al. 2003) y en ratas se ha reportado que la EENV promueve la expresión de ARN mensajero que codifica para la subunidad alfa 1 del receptor GABA en el NRT, el cual se correlacionó con una inhibición en el desarrollo de crisis provocadas por PTZ (Zhang y Zhang, 2002). Sin embargo, en un modelo genético de crisis de ausencia se observó que la administración de bicuculina, antagonista GABA_A, sobre el NRT aumentó la duración de las DEO (Aker et al. 2002) y que la EENV también aumentó el número de DEO (Dedeurwaerdere et al. 2004). Recientemente se observó en un modelo de *kindling* en gatos que la EENV cuando se administra durante el primer estadio tiene efectos antiepiléptogénicos, sin embargo este efecto se pierde si se administra en estadios posteriores, además de que se correlacionó con la aparición de DEO (Magdaleno-Madrigal et al. 2014).

En nuestro experimento la disminución de DEO durante el día 4 en el grupo control puede ser un efecto de tolerancia al PTZ, en un trabajo previo se observó que ratas expuestas a 10 inyecciones de PTZ con intervalo de 48 horas entre cada una, presentaron menor duración de DEO comparado con las que recibieron sólo una (Sierra-Paredes et al. 1989). En ratas sometidas a *kindling* químico se ha observado que la actividad del receptor GABA_A acoplado a benzodiazepinas aumenta durante la primera dosis, no así cuando los animales han desarrollado crisis generalizadas resultado de la estimulación sub-umbral diaria de PTZ (Rocha et al. 1996); este efecto puede estar participando en la disminución de las DEO.

Por otro lado, la disminución de DEO en las ratas sham con EENV puede estar reflejando un efecto protector de la EENV contra las DEO, el cual se mantuvo aun cuando se quitó la EENV. De manera contraria el aumento de DEO por parte del grupo lesión, cuando se suspendió

la EENV, puede implicar que la lesión del NRT no permite que el efecto reductor sobre las DEO se preserve. Este resultado sugiere que la EENV modifica el funcionamiento del circuito cortico-tálamo-cortical durante un estado patológico, sin embargo es necesario que el NRT este intacto para que este efecto pueda mantenerse en el tiempo y sea más robusto el efecto.

Una segunda hipótesis puede ser que la lesión del NRT este promoviendo la aparición de DEO; en ratas con lesión sobre la porción rostral se ha observado que después de una lesión sobre el NRT las ratas presentan descargas parecidas a las DEO de alto voltaje, asociado con inmovilidad, movimientos rítmicos de las vibrisas, detenimientos, además que se interrumpía su conducta de exploración (Marini, Ceccarelli y Mancia, 2002). Este resultado sugiere que la EENV puede estar inhibiendo la aparición de las DEO, en las ratas con lesión, sin embargo, una vez que se deja de estimular el NV, este efecto inhibitor sobre las DEO desaparece.

Un resultado que llamó nuestra atención fue que había una relación entre el número de DEO, la latencia y número de dosis necesarias para desencadenar la primera CGTC, las ratas que presentaron más DEO necesitaron más dosis de PTZ para la primera CGTC y la latencia fue mayor; contrariamente las ratas con menos DEO tuvieron una latencia menor y requirieron menos dosis de PTZ para provocar la 1ra CGTC; este efecto puede ser resultado de la sobre activación del sistema tálamo-cortical, lo que podría estar provocando un retardo en la generalización de las CGTC.

Las ratas que presentaron mayor latencia para la primera CGTC fueron las ratas control, contrariamente a las ratas con EENV. Sin embargo, las únicas que presentaron un aumento progresivo en la latencia y número de dosis para la 1ra CGTC fueron las ratas sham y lesión que recibieron EENV, este efecto es resultado de estimular diariamente el NV, lo que demuestra que el efecto antiepileptogénico es dependiente del tiempo; este resultado es similar al observado en un modelo de *kindling* amigdalino en donde se inició la EENV concomitante con la estimulación amigdalina y se observó que aumentó el número de estimulaciones necesarias para la 1ra CGTC, de manera contraria cuando se comenzó la EENV en estadios avanzados en la escala de Racine se observó que el efecto protector no se presentaba y que esta falta de efectividad se relacionada con la presencia de espiga-onda (Magdaleno-Madrigal et al. 2014).

En las ratas sometidas a la EENV se observó que las ratas con lesión en el NRT presentaron un aumento significativo en la latencia para la CGTC, este resultado puede ser efecto

de la lesión del NRT, en un modelo de *kindling* hipocampal se observó que la estimulación en la porción rostral del NRT detuvo la generalización de las crisis convulsivas, a través de la modulación del sistema tálamo-cortical, se sabe que el NRT participa en el desarrollo de las crisis no convulsivas a través de inhibir las neuronas de relevo del tálamo, durante las DEO las células de relevo tálamo-corticales presentan potenciales postsinápticos inhibitorios debido a la activación de neuronas GABAérgicas locales (Nanobashvili et al. 2003; Pantoja-Jiménez, Magdaleno-Madrigal, Almazan-Alvarado y Fernández-Mas, 2014).

Al comparar la duración de la CGTC no se observó ninguna diferencia significativa entre los grupos, este resultado permite ver que la EENV no interfiere en el mecanismo que mantiene la CGTC, estos resultados son similares a los reportados en ratas que fueron recibieron EENV previo al inicio de una CGTC, en donde se observó que no hubo diferencias entre ratas estimuladas, sham y control (Rijkers et al. 2010).

A pesar de no haber cambios durante la estimulación dentro de los grupos, se observó una tendencia en las ratas sham y lesión del NRT a presentar un aumento en la duración de la CGTC, este efecto puede deberse a la manipulación del NRT, ya en ambos grupos se observó este aumento.

Cuando se comparó la intensidad de la CGTC se observó que hubo más ratas control que presentaron un estadio 6, comparado con las ratas con EENV, este resultado refleja el efecto protector contra las CGTC, un resultado que llamó nuestra atención fue que en el grupo control hubo dos ratas que murieron durante el tercer día de experimento, mientras que en las ratas con EENV ninguna rata murió.

En la clínica se ha observado que el tratamiento farmacológico y EENV es efectiva al suprimir el EE no convulsivo (De Herd et al. 2009), existen pocos trabajos que hayan evaluado la efectividad de la EENV en modelos de EE (Aalbers et al. 2011). En nuestro trabajo encontramos que la EENV tiene efectos protectores contra el EE, ninguna rata que recibió EENV con lesión o sin lesión en el NRT murió durante el tercer día de protocolo, mientras que dentro de las ratas control, dos ratas murieron debido al EE.

El efecto del NV sobre las DEO y la CGTC puede deberse a proyecciones aferentes del tallo cerebral hacia el tálamo y al NRT. Acerca del 95 % de las aferencias del NV proyectan al

NTS. Las proyecciones hacia el cerebro anterior cruzan a través del PBL, LC, cerebelo, núcleo dorsal del rafe y la formación reticular mesencefálica; estas estructuras se ha relacionado fuertemente con el efecto que previene la generalización de las crisis convulsivas (Magdaleno-Madrigal, et al. 2010).

Se ha descrito que el mecanismo básico que participa en la generación de DEO se debe a un mal funcionamiento del circuito cortico-tálamo-cortical (Avoli, 2012), sin embargo las aferencias del tallo cerebral y ganglios basales también han demostrado modular la actividad de las DEO (Snead, 1995); este efecto puede deberse a la activación del LC y del PBL, sin embargo hay un consenso respecto a que el sistema GABAérgico está implicado en la aparición de las DEO, así como el sistema noradrenérgico, dopaminérgico y colinérgico (Berdiev y van Luijtelaar, 2009).

La EENV puede estar participando en la disminución de las DEO a través del PBL y en núcleo dorsal del rafe. Se sabe que la corteza, los ganglios basales y el tallo cerebral ejercen un control sobre el tálamo y en consecuencia sobre el circuito cortico-tálamo-cortical. Se ha observado que la activación del PBL está relacionado con el ciclo vigilia-sueño, durante periodos de sueño de ondas lentas este núcleo parece *callado*, en periodos de somnolencia se muestra un aumento en la actividad, mientras que en estados de alerta o muy activos este núcleo se muestra muy activo, este efecto está mediado por receptores acetil colinérgicos muscarínicos (M1 y M2) en la células de relevo, produciendo un efecto excitatorio, permitiendo que el tipo de disparo de estas neuronas cambie de ráfaga a tónico y posteriormente se mantenga (Sherman, 2004). Similar efecto puede estar ocurriendo en las DEO, al cambiar el tipo de disparo.

En ratas y pacientes con epilepsia se ha visto que la concentración de serotonina está alterada, lo que ha llevado a establecer una relación entre epilepsia y depresión. En ratas WAG/Rij se ha encontrado que durante una DEO, la tasa de disparo del núcleo dorsal del rafe aumenta, lo que implicaría que hay un aumento en la liberación de serotonina y GABA (Lörinez, Oláh, Baracska, Szilágyi y Juhász, 2007), sin embargo se ha correlacionado con una disminución en la concentración de serotonina, probablemente debido a un pobre metabolismo serotoninérgico (Sarkisova y van Luijtelaar, 2011). Nuestros resultados podrían sugerir una mayor actividad de los receptores a serotonina y GABA, lo que se traduciría en un adecuado metabolismo y un efecto protector contra la crisis.

Recientemente se ha observado que las proyecciones GABAérgicas del globo pálido son moduladas a través de los receptores dopaminérgicos (D4) localizados en el NRT, se ha visto que el efecto agonista de D4 inhibe los potenciales postsinápticos inhibitorios (Gasca-Martínez et al. 2010).

En conjunto se sabe que la corteza somatosensorial es donde inicia la actividad eléctrica patológica DEO y que el NRT es quien mantiene la actividad, mientras que el tálamo permite la sincronización, este mecanismo permite explicar que la EENV está actuando como neuromodulador, es decir, regula la excitabilidad del sincronizador e interfiere en el mantenimiento de la actividad patológica a través de las proyecciones del tallo cerebral, finalmente el efecto sobre las CGTC puede deberse a un efecto inhibitorio sobre el sistema límbico que en nuestro modelo se ha observado una mayor actividad (Szyndler et al. 2009).

Conclusiones

Estos resultados permiten concluir que: 1) la EENV previene la muerte en ratas con EE; 2) la EENV administrada de manera continua es más efectiva que en intervalos; 3) la EENV disminuye las DEO y retarda las CGTC; 4) el NRT es parte del mecanismo antiepileptogénico de la EENV; 4) la lesión del NRT aumenta la duración de las CGTC, lo que sugiere que el mecanismo que mantiene las CGTC, es el circuito cortical tálamo cortical.

Finalmente, este trabajo demuestra que el NRT es parte del mecanismo intrínseco que mantiene las crisis epilépticas, y del antiepileptogénico de las EENV, Sin embargo aún hacen falta experimentos que develen el efecto, sólo de la lesión del NRT sobre las DEO y las CGTC provocadas por PTZ, lo que ayudara a confirmar nuestros resultados.

Consideraciones finales

Las siguientes líneas son parte de una reflexión personal en un intento de abordar el conocimiento del objeto de estudio de la psicología.

El estudio del alma, del espíritu, de la mente, bien podría ser el tratado del cerebro; sin embargo esta posición sería igual de radical. No pretendo dar una definición de psicología, lo que busco es denotar la importancia del estudio del cerebro, de cómo la activación del sistema nervioso permite la consolidación de las experiencias y la posibilidad de dar una respuesta adecuada a la tarea o actividad que se demanda.

Creo que la comprensión del papel que juega el cerebro en el desarrollo de las funciones psicológicas, basados en el método experimental podría brindar métodos y técnicas para la aplicación clínica en la rehabilitación o a la promoción de un sano desarrollo *psicológico*. Nuestro trabajo con la EENV en un modelo experimental de epilepsia demostró que la activación del SN disminuyó la severidad de la condición epiléptica en las ratas y que el NRT es parte del mecanismo antiepileptogénico. Este conocimiento se puede llevar a la psicología, sabemos que el NRT participa en la generación de ondas cerebrales rápidas, las cuales se han relacionado con procesos de atención sostenida, memoria y aprendizaje; lo que abre la posibilidad de conocer el efecto de la EENV en tareas que demanden procesos psicológicos.

Finalmente, explicar que los modelos experimentales en animales no humanos no pretenden explicar la *psique*, por el contrario nos permite hacer inferencias sobre el papel de las neuronas en la vida cotidiana.

REFERENCIAS

- Aalbers, M., Vles, J., Klinkenberg, S., Hoogland, G., Majoie, M., Rijkers, K. (2011). Animal models for vagus nerve stimulation in epilepsy. *Experimental Neurology*, 230, 167-175. doi:10.1016/j.expneurol.2011.04.014
- Aker, R.G., Özkara, C., Dervent, A., Onat, F.Y. (2002). Enhancement of spike and wave discharges by microinjection of bicuculine into the reticular nucleus of rats with absence epilepsy. *Neuroscience Letters*, 322, 71-74.
- Aker, R.G., Özyurt, H.B., Yananli, H.R., Özgür-Cakmak, Y., Özkaynakci, A.E., Sehirli, Ü., Saka, E., Cavdar, S., Onat, F.Y. (2006). GABA_A receptor mediated transmission in the thalamic reticular nucleus of rats with genetic absence epilepsy shows regional differences: Functional implicatios. *Brain Research*, 1111, 213-221. doi: 10.1016/j.brainres.2006.06.118
- Aniol, V.A., Ivanova-Dyatlova, A., Keren, O., Guekht, A.B., Sarne, Y., Gulyaeva, N.V. (2013). A single pentilenetetrazole-induced clonic-tonic seizure episode is accompanied by a slowly developing cognitive decline in rats. *Epilepsy & Behavior*, 26, 196-202. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.12.006>
- Avoli, M. (2012). A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia*. Publicación anticipada en línea. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03421.x
- Banarjee, P.N., Filippi, D., Hauser, W.A. (2009). The descriptive epidemiology of epilepsy – A review. *Epilepsy Research*, 85, 31-45. doi:10.1016/j.epilepsyres.2009.03.003
- Bazyan, A.S., Mel'nik, V.I., Bikbulatova, L.S., Karpova, M.N. (2002). The pentylenetetrazole allosteric component of the GABA_A receptor plasticity. *Physiology*, 386, 400-403.
- Van Luijtelaar, G., Berdiev, R.K. (2009). Cholinergic stimulation of the nucleus basalis of Meynert and reticular thalamic nucleus affects spike-and-wave discharges in WAG/Rij rats, *Neuroscience Letters*, 463, 249-253. doi:10.1016/j.neulet.2009.07.068

- Berg, A.T., Berkovic, S.F., Brodie, M.J., Buchhalter, J., Cross, J.H., Van Emde Boas, W., Engel, J., French, J., Glauser, T.A., Mathern, G.W., Moshé, S.L., Nordli, D., Plouin, P., Scheffer, I.E. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE commission on classification and terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, 51(4), 676-685. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x
- Bertram, E.H. (2013). Neuronal circuits in epilepsy: Do they matter? *Experimental Neurology*, 244, 67-74. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.01.028
- Bertram, E.H. (2009). Temporal lobe epilepsy: Where do the seizures really begin? *Epilepsy & Behavior*, 14, 32-37. doi: 10.1016/j.yebeh.2008.09.017
- Bradford, H.F. (1995). Glutamate, GABA and epilepsy. *Progress in Neurobiology*, 47, 477-511.
- Burneo, J.G., Tellez-Zenteno, J., Wiebe, S. (2005). Understanding the burden of epilepsy in Latin America: A systematic review of its prevalence and incidence. *Epilepsy Research*, 66, 63-74. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2005.07.002
- Castillo, C.G., Mendoza, S., Saavedra, J., Giordano, M. (2010). Lack of intranigral transplants of GABAergic cell line on absence seizures. *Epilepsy & Behavior*, 18, 358-365. doi: 10.1016/j.yebeh.2010.06.005
- Chaudhary, U.J., Duncan, J.S., Lemieux, L. (2011). A dialogue with historical concepts of epilepsy from the Babylonians to Hughlings Jackson: Persistent beliefs. *Epilepsy and behavior*, 21, 109-114. doi: 10.1016/j.yebeh.2011.03.029
- Cremer, C.M., Palomero-Gallagher, N., Bidmon, H.J., Schleicher, A., Speckmann, E.J., Zilles, K. (2009). Pentylentetrazole-Induced seizures affect binding site densities for GABA, glutamate and adenosine receptors in rat brain. *Neuroscience*, 163, 490-499. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.03.068
- De Herd, V., Waterschoot, L., Vock, K., Dermaut, B., Verhelst, H., Van Coster, R., De Jaeger, A. (2009). Vagus nerve stimulation for refractory status epilepticus. *European journal of Pediatric Neurology*, 13, 286-289. doi: 10.1016/j.ejpn.2008.05.004
- Dedeurwaerdere, S., Vonk, K., Claeys, P., Van Hese, P., D'Havé, M., Grisar, T. (2004). Acute vagus nerve stimulation does not suppress spike and wave discharges in "Genetic Absence

- Epilepsy Rats from Strasbourg". *Epilepsy Research*, 59, 191-198. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2004.04.005
- Delgado, J.R., Sevillano, M. (1961). Evolution of repeated hippocampal seizures in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol*, 13, 722-733.
- Di Perri, C., Stender, J., Luareys, S., Glosseries, O. (2014). Functional Neuroanatomy of disorders of consciousness. *Epilepsy & Behavior*, 30, 28-32. doi: 10.1016/j.yebeh.2013.09.014
- Eadie, M.J. (2007). Cortical epileptogenesis-Hughlings Jackson and his predecessors. *Epilepsia*, 48 (11), 2010-2015. doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01163.x
- Elliot, R.E., Morsi, A., Tanweer, O., Grobelny, B., Geller, E., Carlson, C., Devinsky, O. (2011). Efficacy of vagus nerve stimulation over time: Review of 65 consecutive patients with treatment-resistant epilepsy treated with VNS > 10 years. *Epilepsy & Behavior*, 20, 478-843. doi: 10.1016/j.yebeh.2010.12.042
- Fariello, R.G. (1995). Critical review of the animal models of generalized epilepsies. *The Italian Journal of Neurological Science*, 16, 69-72.
- Fernandes, P.T., Snape, D.A., Beran, R.G., Jacoby, A. (2011). Epilepsy stigma: What do we know and where next? *Epilepsy & Behavior*, 22, 55-62. doi: 10.1016/j.yebeh.2011.02.014
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V.M., Martínez, D., Fernández-Mas, R. (1999). Vagus nerve prolonged stimulation in cats: Effects on epileptogenesis (Amygdala electrical kindling): Behavioral and electrographic changes. *Epilepsia*, 40 (7), 822-829.
- Fernández-Mas, R., Valdés-Cruz, A., Martínez, A., Magdaleno-Madrigal, V.M., Almazán-Alvarado, S., Martínez-Vargas, D., Fernandez-Guardiola, A. (1998). Visualización gráfica de las transiciones de las fases del sueño en el hombre: Métodos de representación tridimensional. *Salud Mental*, 21, 27-32.
- Lopes, F.A., Rodrigues-Simões, M., Monteiro, J.P., Fonseca, M.J., Martins, C., Ventosa, L., Lourenco, L. (2013). Intellectual functioning in children with epilepsy: Frontal lobe

- epilepsy, childhood absence epilepsy and benign epilepsy with centro-temporal spikes. *Seizure*, 22, 886-892. doi: 10.1016/j.seizure.2013.08.002
- Fisher, R., van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P. et al. (2005). Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Burden for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470-472. doi: 10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x.
- Gasca-Martínez, D., Hernández, A., Sierra, A., Valdiosera, R., Anaya-Martínez, V., Floran, B., Erlij, D. (2010). Dopamine inhibits GABA transmission from the globus pallidus to the thalamic reticular nucleus via presynaptic D4 receptor. *Neuroscience*, 169, 1672-1681. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.05.048
- Goddard, G.V., McIntyre, D.C., Leech, C.K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology*, 25, 295-330.
- Gutierrez-Moctezuma, J., Gutierrez-Cadena, M. (2009). Historia de la medicina. Organización Médica Mexicana (Azteca) y sus tratamientos, con énfasis en la epilepsia. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 10 (4), 294-300.
- Haiyang, W., Xiaoguang, C., Zhiguo, L., Zhengbo, S., Bomin, S., Hong, S., et al. (2009). Long-term effect of vagus nerve stimulation on interictal epileptiform discharges in refractory epilepsy. *Journal of neurological sciences*, 284, 96-102. doi: 10.1016/j.jns.2009.04.012
- Ito, T., Hori, M., Yoshida, K., Shimizu, M. (1977). Effect of anticonvulsants on seizures developing in the course of daily administration of pentetrazol to rats. *European Journal of Pharmacology*, 45, 165-172.
- Killory, B.D., Bai, X., Negishi, M., Vega, C., Spann, M.N., Vestal, M., Guo, J. (2011). Impaired attention and network connectivity in childhood absence epilepsy. *Neuroimage*, 56, 2209-2217. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.03.036
- Korff, C.M., Scheffer, I.E. (2013). Epilepsy classification: A cycle of evolution and revolution. *Seizure Disorders*, 26 (2), 163-167. doi: 10.1097/WCO.ob013e32835ee58e
- Krahl, S.E., Clark, K.B., Smith, D.C. y Browning, R.A. (1998). Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation. *Epilepsia*, 39, 709-714.

- Krahl, S.E., Senanayake, S.S., Handforth, A. (2001). Destruction of peripheral C-fibers does not alter subsequent vagus nerve stimulation-induced seizure suppression in rats. *Epilepsia*, 42 (5), 586-589.
- Krahl, S.E. y Clark, K.B. (2013). Vagus nerve stimulation for epilepsy: A review of central mechanisms. *Surgical Neurology International*, 3(4), 255-259. doi: 10.4103/2152-7806.103015
- LaFrance Jr., C., Lancman, G., Machan, J., Davis, J. y Blum, A. (2012). Depression symptoms as a function of duration of intractable or controlled epilepsy. *Epilepsy & Behaviour*, 24, 116-119. doi: 10.1016/j.yebeh.2012.03.010
- Lanska, D.J. (2002). J.L. Corning and vagal nerve stimulation for seizures in the 1880s. *Neurology*, 58(3), 452-459.
- Lopes, A.F., Rodrigues-Simoes, M., Monteiro, J.P., Fonseca, M.J., Martins, C., Ventosa, L., Lourenco, L. (2013). Intellectual functioning in children with epilepsy: Frontal lobe epilepsy, childhood absence epilepsy and benign epilepsy with centro-temporal spikes. *Seizure*, 22, 886-892. doi: 10.1016/j.seizure.2013.08.002
- López-Trigo, J., Blanco-Hernández, T., Ortiz-Sánchez, P. (2011). Indicaciones del electroencefalograma en la epilepsia. *Medicine*, 10 (74), 5055-5059.
- Lörincz, M., Oláh, M., Baracska, P., Szilágyi, N., Juhász, G. (2007). Propagation of spike and wave activity to the medial prefrontal cortex and dorsal raphe nucleus of WAG/Rij rats. *Physiology & Behavior*, 90, 318-324. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.09.020
- Löscher, W. (2011). Critical review of current animal models of seizure and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*, 20, 359-368. doi: 10.1016/j.seizure.2011.01.003
- Lüttjohann, A., Fabene, P.F., Van Luijckelaar, G. (2009). A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiology & Behavior*, 98, 579-586. doi: 10.1016/j.physbeh.2009.09.005
- Lüttjohann, A., Van Luijckelaar, G. (2012). The dynamics of cortico-thalamo-cortical interactions at the transition from pre-ictal to ictal LFPs in absence epilepsy. *Neurology of Disease*, publicación anticipada. doi: 10.1016/j.nbd.2012.03.023
- Maciejak, P., Szyndler, J., Turzyska, D., Sobolewska, A., Bidzinski, A., Kolosowska, K., Plaznik, A. (2010). Time course of changes in the concentrations of amino acids in the

- brain structures of pentylentetrazole-kindled rats. *Brain Research*, 1342, 150-159. doi: 10.1016/j.brainres.2010.04.045
- Magdaleno-Madrigal, V.M., Valdés-Cruz, A., Martínez-Vargas, D., Almazán-Alvarado, S. Fernández-Mas, R. (2014). Effect of vagus nerve stimulation on electrical kindling in different stages of seizure severity in freely moving cats. *Epilepsy Research*, 108, 81-89. doi: 10.1016/j.epilpesyres.2013.10.012
- Magdaleno-Madrigal, V.M., Valdés-Cruz, A., Martínez-Vargas, D., Martínez, A., Almazán-Alvarado, S., Fernández-Mas, R., Fernández-Guardiola, A. (2002). Effect of electrical stimulation of the nucleus of the solitary tract on the development of electrical amygdaloid kindling in the cat. *Epilepsia*, 43 (9), 964-969.
- Magdaleno-Madrigal, V.M., Martínez-Vargas, D., Valdés-Cruz, A., Almazán-Alvarado, S. y Fernández-Mas, R. (2010). Preemptive effect of nucleus of the solitary tract stimulation on amygdaloid kindling in freely moving cats. *Epilepsia*, 51(3), 438-444. doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02337.x
- Magiorkinis, E., Sidiropoulou, K., Diamantis, A. (2010). Hallmarks in the history of epilepsy: Epilepsy in antiquity. *Epilepsy & Behavior*, 17, 103-108. doi: 10.1016/j.yebeh.2009.10.023
- Marini, G., Ceccarelli, P., Mancina, M. (2002). Thalamocortical dysrhythmia and the thalamic reticular nucleus in behaving rats. *Clinical Neurophysiology*, 113, 1152-1164.
- Marras, C., Chiesa, V., De Benedictis, A., Franzini, A., Rizzi, M., Villani, F., et al. (2013). Vagus nerve stimulation in refractory epilepsy: New indications and outcome assessment. *Epilepsy & Behaviour*, 28, 374-378. doi: 10.1016/j.yebeh.2013.05.021
- Marrosu, F., Serra, A., Maleci, A., Puligheddu, M., Biggio, G. y Piga, M. (2003). Correlation between GABA_A receptor density and vagus nerve stimulation in individuals with drug-resistant partial epilepsy. *Epilepsy Research*, 55, 59-70. doi: 10.1016/S0920-1211(03)00107-4
- McIntyre, D.C. (2006). The kindling phenomenon. En A. Pitkänen, P.A. Schwartzkroin & S.L. Moshé (Eds.), *Models of Seizures and Epilepsy* (pp. 351-363). Elsevier.
- Nanobashvili, Z., Chachua, T., Nanobashvili, A., Bilanishvili, I., Lindvall, O., Kokaia, Z. (2003). Suppression of limbic motor seizures by electrical stimulation in the thalamic

- reticular nucleus. *Experimental Neurology*, 181, 224-230. doi: 10.1016/S0014-4886(03)00045-1
- Nehlig, A., Pereira de Vasconcelos, A. (1996). The model of pentilenetetrazol-induced status epilepticus in the immature rat: short-and-long term effects. *Epilepsy Research*, 26, 93-103.
- Ottersen, O.P. (1981). Afferent connections to the Amygdaloid complex of the rat with some observations in the cat. III. Afferents from the lower brain stem. *The Journal of Comparative neurology*, 202, 335-356.
- Paintal, A.S. (1973). Vagal sensory receptors and their reflex effects. *Physiological reviews*, 53, 159-227.
- Pantoja-Jiménez, C.R., Magdaleno-Madrigal, V.M., Almazán-Alvarado, S., Fernández-Mas, R. (2014). Anti-epileptogenic effect of high-frequency stimulation in the thalamic reticular nucleus on PTZ-induced seizures. *Brain Stimulation*, publicación anticipada. doi: 10.1016/j.brs.2014.03.012
- Pérez-Velázquez, J.L., Zhen-Huo, J., García-Domínguez, L., Leshchenko, Y., Snead, O.C. (2007). Typical versus atypical absence seizures: Network Mechanisms of the spread of paroxysms. *Epilepsia*, 48 (8), 1585-1593. doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01120.x
- Pinault, D. (2004). The thalamic reticular nucleus: Structure, function and concept. *Brain Research Reviews*, 46, 1-31. doi: 10.1016/j.brainresrev.2004.04.008
- Quet, F., Preux, P.M., Huerta, M., Ramírez, R., Abad, T., Fragoso, G., Morales, J., (2011). Determining the Burden of neurological disorders in population living in tropical areas: Who would be questioned? Lessons from a mexican rural community. *Methods in Neuroepidemiology*, 36, 194-203. doi: 10.1159/000327496
- Raedt, R., Clinckers, R., Mollet, L., Vonck, K., Tahry, R.E., Wyckhuys, T., De Herdt, V. (2011). Increased Hippocampal noradrenaline is a biomarker for efficacy of vagus nerve stimulation in a limbic seizure model. *Journal of Neurochemistry*, 117, 461-469. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07214.x
- Ramos-Morales, F.R., Correa-Basurto, J., Saavedra-Vélez, M., Acosta-Hernández, M.E., Gasca-Pérez, A., Pérez-Palacios, A., Trujillo-Ferrara, J. (2012). Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsante. *Archivos de Neurociencias*, 17, 45-48.

- Ramsay, R.E., DeToledo, J. (1997). Tonic-Clonic seizures: A systematic review of antiepilepsy drug efficacy and safety. *Clinical Therapeutics*, 19 (3), 433-446.
- Rijkers, K., Aalbers, A., Hoogland, G., Van Winden, L., Vles, J., Steinbusch, H., Majoie, M. (2010). Acute seizure-suppressing effect of vagus nerve stimulation in the amygdala kindled rat. *Brain Research*, 1319, 155-163. doi: 10.1016/j.brainres.2010.01.014
- Rijkers, K., Majoie, H.J.M., Aalbers, M.W., Philippens, M., Doenni, V.M., Vles, J.S.H., Steinbusch, H.M.W. (2012). Rat vagus nerve stimulation model of seizure suppression: nNOS and Fos B changes in the brainstem. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 46, 1-9. doi: 10.1016/j.jchemneu.2012.09.004
- Rocha, L., Briones, M., Ackeman, R.F., Anton, B., Maidment, N.T., Evans, C.J., Engel, J. (1996). Pentylentetrazol-induced kindling: early involvement of excitatory and inhibitory systems. *Epilepsy Research*, 26, 105-113
- Rodríguez-Sala, M.L., Soriano-Cuevas, N.K. (2012). En torno a un tratamiento de la epilepsia en la Nueva España: el uso del cráneo humano por tres médicos en Puebla, 1702. *Revisión Neurológica*, 13 (5), 286-293.
- Rowley, N.M., Madsen, K., Schousboe, A., White, H.S. (2012). Glutamate and GABA synthesis, release, transport and metabolism as targets for seizure control. *Neurochemistry International*, 61, 546-558. doi: 10.1016/j.neuint.2012.02.013
- Ruffoli, R., Giorgi, F., Pizzanelli, C., Murri, L., Paparelli, A. y Fornai, F. (2011). The chemical neuroanatomy of vagus nerve stimulation. *Journal of chemical Neuroanatomy*. doi:10.1016/j.jchemneu.2010.12.002.
- Rutecki, P. (1990). Anatomical, physiological, and theoretical basis for the antiepileptic effect of vagus nerve stimulation. *Epilepsia*, 31(2), 1-6.
- Saper, C.B. (1982). Reciprocal parabrachial-cortical connections in the rat. *Brain Research*, 242, 33-40.
- Sarkisova, K., Van Luijckelaar, G. (2011). The WAG/Rij strain: A genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 35, 854-876. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.010
- Sato, M., Racine, R.J., McIntyre, D.C. (1990). Kindling: basic mechanisms and clinical validity. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 76, 459-472.

- Sherman, S.M. (2004). Interneurons and triadic circuit of the thalamus. *TRENDS in Neurosciences*, 27 (11), 670-675. doi: 10.1016/j.tins.2004.08.003
- Shorvon, S. (2014). The evolution of epilepsy theory and practice at the National Hospital for the Relief and Cure of Epilepsy, Queen Square Between 1860 and 1910. *Epilepsy & Behavior*, 31, 228-242. doi: 10.1016/j.yebeh.2013.10.023
- Sierra-Paredes, G., Soto-Otero, R., Méndez-Álvarez, E., Galán-Valiente, J., Aguilar-Veiga, E., Sierra-Marcuño, G. (1989). Experimental spike and wave discharges induced by pentilentetrazol and tolerance to repeated injections: an electrophysiological and biochemical study. *Epilepsy research*, 4, 139-146.
- Sitnikova, E., Van Luijtelaaar, G. (2006). Cortical and thalamic coherence during spike-wave seizure in WAG/Rij rats. *Epilepsy Research*, 71, 159-180. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2006.06.008
- Snead, O.C. (1995). Basic mechanisms of generalized absence seizures. *Annals of Neurology*, 37, 146-157.
- Szyndler, J., Maciejak, P., Turzynska, D., Sobolewska, A., Taracha, E., Skorzevska, A., Lehner, M. (2009). Mapping of c-Fos expression in the rat brain during the evolution of pentylentetrazol-kindled seizures. *Epilepsy & Behavior*, 16, 216-224. doi: 10.1016/j.yebeh.2009.07.030
- Treiman, D.M. (2007). Treatment of convulsive status epilepticus. *International Review of Neurobiology*, 81, 273-285. doi: 10.1016/S0074-7742(06)81018-4
- Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V.M., Martínez-Vargas, D., Fernández-Mas, R., Almazám-Alvarado, S. (2008). Long-term changes in sleep and electroencephalographic activity by chronic vagus nerve stimulation in cats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 32, 828-834. doi: 10.1016/j.pnpbp.2007.12.020
- Volcy-Gómez, M. (2004). Epilepsia de lóbulo temporal mesial: fisiopatología, características clínicas, tratamiento y pronóstico. *Revista de Neurología*, 38 (7), 663-667.
- Walker, B.R., Easton, A., Gale, K. (1999). Regulation of limbic motor seizures by GABA and glutamate transmission in nucleus tractus solitarius. *Epilepsia*, 40 (8), 1051-1057.

- Weiss, G.K., Lewis, J., Jiménez-Rivera, C., Vigil, A., Corcoran, M.E. (1990). Antikindling effect of locus coeruleus stimulation: Mediation by ascending noradrenergic projections. *Experimental Neurology*, 108, 136-140.
- Wolf, P. (2006). Basic principles of the ILAE síndrome classification. *Epilepsy Research*, 70S, S20-S26. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2006.01.015
- Zabara, J. (1992). Inhibition of experimental seizures in canines by repetitive vagal stimulation. *Epilepsia*, 33(6), 1005-1012.
- Zanchetti, A., Wang, S. y Moruzzi, G. (1952). The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 4(3), 357-361.
- Zardetto-Smith, A. y Gray, T. (1990). Organization of peptidergic and catecholaminergic efferents from the nucleus of the solitary tract to the rat amygdala. *Brain research bulletin*, 25, 875-887.