



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE PSICOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL
NERVIO VAGO EN RATAS CON KINDLING EN LA
CORTEZA PRELÍMBICA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

P R E S E N T A:

LEÓN GERÓNIMO PAVEL VELÁZQUEZ HERNÁNDEZ

JURADO DE EXAMEN

**TUTOR: DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL
COMITÉ: MTRO: PABLO GARRIDO BUSTAMANTE
DR: EDUARDO ALEJANDRO ESCOTTO CÓRDOBA
LIC: CARLOS MARTÍNEZ LÓPEZ
MTRO: ALEJANDRO VALDÉS CRUZ**



México D.F

Junio 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.

Agradecimientos:

A mi madre y padre por ser el aliento constante cuando las asfixia me carcomía, y por aquellas pláticas que siempre me hicieron recordar mi rumbo cuando parecía que lo estaba perdiendo.

A mi hermana por ese apoyo que tantas y tantas veces me extendió, incluso unas tantas sin darse cuenta.

A Maricela por convertirse en mi apoyo incondicional y ser el beso que me reconciliaba cada noche... gracias por no soltar mi mano.

Al Movimiento de Aspirantes Excluidos de la Educación Superior (MAES), y particularmente a Higinio Muñoz, que fueron los que, con el ejemplo de la lucha en las calles y la convicción, me permitieron ingresar al sueño de ser universitario... ¿Quién dijo que todo está perdido?

A Víctor M. por abrirme las puertas a un laboratorio, sin esa invitación, la ciencia quizá, nunca se me hubiera presentado. Gracias también por todos esos momentos de discusión y esa guía constante en el ir y venir de la experimentación.

A Alejandro V, Christopher P, Alejandro G, Rubén C, Erandy V. y David M. Por mostrarme una salida al laberinto de mis pensamientos cuando estos, en el encierro del laboratorio, parecían volverme loco.

A todos aquellos andantes, compañeros de mi vida, que una y otra vez me prestaron su presencia y soportaron un tedioso soliloquio sin caer en el sopor del aburrimiento visible.

Gracias a todos ellos porque sin duda sé que en su ausencia hubiera sido imposible contener el sueño de la ciencia en mi pensamiento.

Resumen:

La estimulación eléctrica del nervio vago (VNS) y la estimulación profunda, han demostrado ser efectivas como tratamiento para desórdenes neuropsiquiátricos refractarios. En el presente estudio, se reporta el efecto de la VNS en ratas con kindling en la corteza prelímbica, dando un énfasis particular a los aspectos “antidepresivos” y de respuesta “emocional”. Se utilizaron 24 ratas tipo wistar las cuales fueron implantadas estereotáxicamente en la corteza prelímbica derecha y amígdala izquierda, se colocaron tornillos epidurales en la corteza parietal para un registro electroencefalográfico. También se implantó un electrodo bipolar en el nervio vago izquierdo. En el primer grupo de animales, la estimulación de kindling en la corteza prelímbica se realizó en intervalos de una hora cinco veces por día (tren de 5 s, a 60 Hz, con pulsos de 1 ms de duración). En el segundo grupo, se realizó la ENV diez veces en intervalos de cinco minutos (30Hz, 0.5 ms de duración). En el tercer grupo, se realizó estimulación kindling y VNS. Todas las ratas fueron sometidas a prueba de nado forzado (FST) y prueba de aversión (TA). Se observaron distintos efectos entre grupos. Por un lado, la ENV presentó un afecto facilitador en el desarrollo de la epilepsia en la estimulación kindling sobre la prelímbica; por otro lado, se mostró un efecto antidepresivo y una reducción en el consumo de sabor aversivo. En el grupo de kindling sobre la prelímbica, nunca presentó fase V, de cualquier forma, en este grupo se presentaron crisis epilépticas espontáneas. Estos resultados indican que la estimulación concomitante de VNS y kindling puede alterar la actividad sináptica en las estructuras que modulan las respuestas “emocionales”.

Índice:

1.- Glosario_____	5
2.- El nervio vago_____	6
2.1. Estimulación eléctrica del nervio vago en la epilepsia_____	8
2.2. Estimulación eléctrica del nervio vago en la depresión_____	11
3.- Kindling eléctrico en la CPFvm_____	13
3.1. La Corteza prefrontal_____	14
3.2. Conexiones de la CPFvm_____	17
4.- Metodología experimental_____	22
4.1. Objetivo_____	22
4.2. Hipótesis_____	22
4.3. Variables_____	23
4.4 Material_____	23
4.5. Resultados_____	29
4.6. Discusión_____	33
4.7 Conclusión_____	35
4.8 Referencias_____	36

Glosario:

Ácido Gamma-aminobutírico.....	GABA
Adrenocorticotropina.....	AcTH
Amígdala Basal.....	AB
Amígdala Basolateral.....	BLA
Amígdala Central.....	AC
Amígdala.....	Am
Corteza Prefrontal.....	CPF
Corteza Prefrontal Dorsolateral.....	CPFdl
Corteza Prefrontal Medial.....	CPFm
Corteza Prefrontal Ventromedial.....	CPFvm
Estimulación Eléctrica del Nervio Vago.....	VNS
Hipocampo.....	Hip
Hipotálamo-Hipofisario-Adrenal.....	HHA
Incremento de flujo sanguíneo cerebral.....	IFSC
Infralímbica.....	InL
Kindling.....	K
Locus Coeruleus.....	LC
Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales IV revisado.....	DSM-IV-R
Nervio Vago.....	NV
Noradrenalina.....	NA
Norepinefrina	NE
Núcleo del Tracto Solitario.....	NTS
Núcleo Dorsal del Raphé.....	NDR
N-metil-D-aspartato.....	NMDA
Organización Mundial de la Salud.....	OMS
Parietal.....	Par
Prelímbica.....	PrL
Prueba de Aversión.....	TA
Prueba de Nado Forzado.....	FST
Tomografía por Emisión de Positrones.....	PET
Transformada Rápida de Fourier.....	FFT

EL NERVIO VAGO

El nervio vago (NV) es el décimo par craneal que tiene su origen en la médula oblongada, se considera un nervio mixto ya que está compuesto de fibras motoras, sensitivas y vegetativas (Foley y DuBois, 1937; Agostoni et al. 1957). El 80% consiste en fibras aferentes. El 90% de las 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) (Fig. 1).

El principal relevo del NV hacia el cerebro anterior es el núcleo del tracto solitario (NTS), el cual proyecta de manera directa hacia amígdala (Zardetto et al., 1990), corteza prefrontal (Saper, C.B., 1982), hipocampo, hipotálamo y núcleo dorsal del rafe (Rutecki, 1990) e indirectamente al tálamo mediante el complejo parabraquial y al Locus Coeruleus (LC) a través de los núcleos paragigantocelular y prepósito del hipogloso (Ruffoli, 2011).

Los primeros datos obtenidos en un laboratorio sobre los efectos del nervio vago 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 I, 1998).

Otto Loewi (1921) proporcionó los primeros hallazgos acerca de la transmisión química de los impulsos nerviosos en este proceso. En sus experimentos, extrajo el corazón de una rana con su respectivo nervio, lo depositó en un recipiente con líquido de perfusión que llegaba a otro corazón de rana denervado, sin que existiera contacto alguno entre ellos. Posteriormente, estimuló el nervio vago del primer corazón y encontró que el ritmo cardíaco del segundo corazón descendía, y que este descenso estaba mediado por una sustancia química que liberaba el nervio vago estimulado. Loewi llamó *vagusstoff* a la sustancia química que aminoraba el ritmo del corazón; más tarde, se demostró que se trataba de la acetilcolina, que Dale ya había aislado en 1914 (Dale H, 1914).

A finales del siglo XIX, James Leonard Corning (1879-1900) desarrolló una serie de instrumentos para el tratamiento de la epilepsia con base en la teoría de Hillier Parry (1792) (Lanska, 2002), que proponía que las crisis convulsivas y las cefaleas eran trastornos

causados por un exceso de fluido cerebral. Corning observó entre 1880 y 1883 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 nervio vago y los nervios simpáticos cervicales. Encontró que esta combinación tenía los mismos efectos sobre la epilepsia que la compresión de la carótida sola. Corning concluyó en 1884 que este tratamiento tenía un gran valor terapéutico para la epilepsia. Hasta ese momento, su aplicación en otras patologías era inexistente, ya que sólo se vislumbraba como herramienta para el tratamiento de la epilepsia.

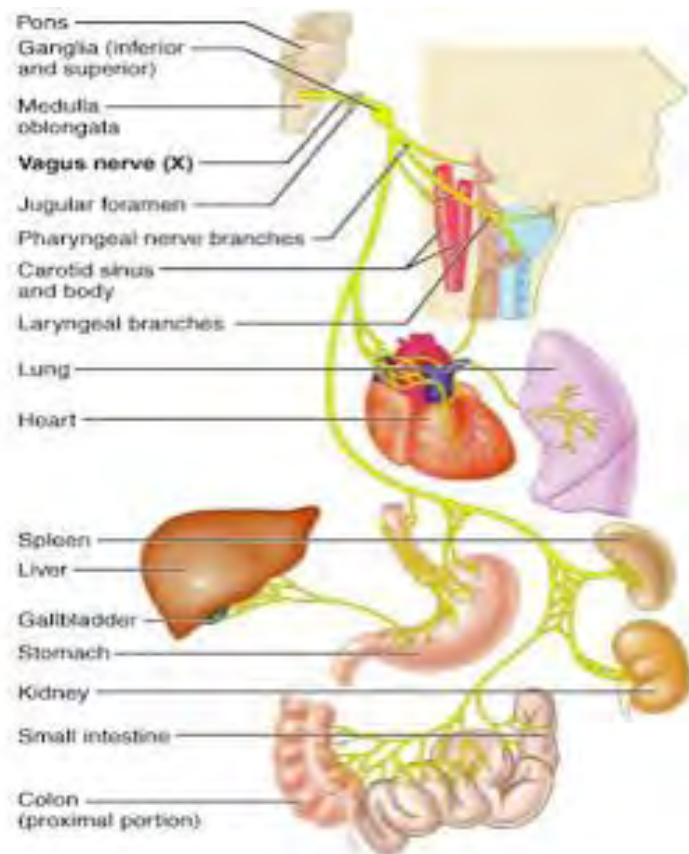


Fig .1 representación de las vísceras inervadas por el nervio vago

ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIO VAGO EN LA EPILEPSIA

La epilepsia es un trastorno neurológico caracterizado por una predisposición permanente para generar crisis epilépticas, y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales de esta condición. La definición de epilepsia requiere la ocurrencia de por lo menos una crisis epiléptica (Fisher et al. 2005). Las crisis epilépticas pueden ser parciales, en las cuales no se pierde el tono muscular ni la conciencia, o generalizadas; en estas, regularmente se pierde la conciencia y se presenta una crisis convulsiva tónico-clónica.

Esta afección neurológica crónica es padecida por aproximadamente 50 millones de personas, esto representa entre el 1 y 2% de la población mundial (OMS, 2009) El INNN (Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía) de la Ciudad de México reporta que existen aproximadamente 1,800,000 personas con epilepsia (hospitalangeles.com). Asimismo, se ha encontrado alta incidencia de comorbilidad entre epilepsia con otros desórdenes de carácter psiquiátrico, destacando trastornos del estado del ánimo entre 24-74%, depresión 30% y trastornos de ansiedad 10-25%.

Se ha demostrado el efecto anticonvulsivo de la estimulación eléctrica del nervio vago (VNS por sus siglas en inglés) en modelos de crisis parciales complejas, crisis generalizadas y modelos experimentales de epilepsia del lóbulo temporal (Ver Aalbers et al. 2011). También se ha estudiado su efecto anticonvulsivo pre-tratamiento (Takaya et al. 1996), y su efecto antiepiléptico en un modelo de estatus epiléptico (Treiman et al. 2009). Sin embargo, en un modelo genético de crisis de ausencia, Dedeurwaerdere et al. (2004), observaron que las descargas espiga-onda, características de las crisis no convulsivas, aumentaban su duración después de la estimulación eléctrica aguda del NV.

Los primeros trabajos que mostraron efectos antiepileptogénicos utilizando la VNS fueron realizados en modelos experimentales de epilepsia. Zanchetti et al. (1952), mostraron que la VNS tenía efectos inhibitorios en un modelo experimental de epilepsia en la corteza frontal del gato.

Zabara sugirió que la VNS 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 (Zabara, 1992).

Fue hasta 1988 que se llevó a cabo el primer implante de un microprocesador para la VNS en un paciente refractario (Penry y Dean, 1990). Woodbury y Woodbury (1990, 1991) probaron el efecto de la VNS 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 VNS. Sin embargo, Krahl et al. (2001), reportaron que la destrucción de las fibras C no alteraba la supresión de las crisis epilépticas provocadas por la VNS.

En el 2000, Zagon y Kemeny probaron estímulos de baja intensidad (1 Hz, pulsos de 0.5 ms, 100 μ A) sobre el NV observando una hiperpolarización de la actividad neuronal en la corteza parietal en ratas anestesiadas. Al aplicar trenes de 30 Hz durante 20 s, la hiperpolarización fue más evidente con las intensidades de 100 y 200 μ A; al aumentar la intensidad del estímulo a 200 y 500 μ A, observaron una corta despolarización.

Con el modelo de kindling amigdalino, Fernández-Guardiola et al. (1999), comprobaron la eficacia de la VNS, 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. (2010), estimularon el NV de manera aguda, en ratas previamente epileptizadas 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 VNS incrementa en relación al tiempo de estimulación. Elliot et al. (2011), hicieron un seguimiento a 65 pacientes con VNS encontrando que después del primer año con VNS hubo una disminución del 52.1% de las crisis epilépticas, además mostraron que la efectividad de la VNS 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), con un seguimiento de tres años de ocho pacientes con epilepsia refractaria mostraron que la efectividad de la VNS comienza a ser significativa al año de estimulación reduciendo en 62.5% la frecuencia de las crisis epilépticas; reportaron también que durante los primeros seis meses de estimulación no hay cambios significativos en la reducción de las crisis epilépticas.

Feinstein et al. (1989), mostraron que el agotamiento de la noradrenalina (NA) facilita el proceso del kindling. Más tarde, Krahl et al. (1998), mostraron que la inactivación temporal del Locus Coeruleus (LC) con lidocaína suprimía el efecto anticonvulsivo de la VNS.

Raedt et al. (2011), estimularon el NV e inyectaron pilocarpina de manera tópica en el hipocampo izquierdo para provocar crisis epilépticas, encontrando que la VNS 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 VNS puede ser por un aumento en la liberación de NA, globalmente o en algunas estructuras específicas del cerebro como el LC.

Walker et al. (1999), demostraron que el aumento en la neurotransmisión de ácido γ -aminobutírico (GABA) 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 VNS 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 VM et al. (2002, 2010), demostraron que la estimulación eléctrica del NTS de manera concomitante con el kindling eléctrico amigdalino en el gato, provoca 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, en 2010, estimularon la porción medial por seis días previos a la estimulación de la 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. Recientemente, encontraron en gatos, que la estimulación eléctrica directa al NV provoca un efecto anti-epileptogénico, cuando se aplica en las primeras etapas del kindling amigdalino.

Zhang y Zhang (2002) encontraron que la VNS provoca disminución en la expresión del ARNm del NMDA_{R1} y un aumento en la expresión del ARNm del GABA_A en el núcleo reticular del tálamo (NRT); estos datos se compararon con animales no tratados con la VNS, concluyendo que la VNS disminuye la excitabilidad de la corteza cerebral por la disminución de los receptores para glutamato y por el aumento de los receptores para GABA en el NRT.

ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIO VAGO EN LA DEPRESIÓN

La depresión, es un trastorno del ánimo que afecta a más de 350 millones de personas de todas las edades en el mundo (OMS, 2012). La depresión mayor se caracteriza por una pérdida de interés o placer en casi todas las actividades, teniendo como síntomas, cambios en apetito, sueño y actividad psicomotora, pensamientos recurrentes de muerte, así como sentimientos de infravaloración o culpa (DSM-IV-RT, 2002). El 30% de los pacientes que padecen depresión resultan refractarios al medicamento (Beekwilder y Beems, 2010), para los cuales, una opción terapéutica ha sido la VNS.

Las primeras evidencias de la efectividad de la VNS sobre la depresión se reportaron en pacientes con epilepsia refractaria, en los cuales se observó una mejora en el estado de ánimo. Elger et al. (2000), observaron que al estimular eléctricamente el NV (mediante el implante de un electrodo y un estimulador automático) a 10mA y pulsos de 500µs, después de tres y seis meses, los síntomas depresivos desaparecían en pacientes epilépticos, estos resultados fueron independientes del efecto antiepiléptico. En el primer reporte clínico, se observó que 30% de los pacientes con depresión mayor tratados durante 12 semanas con VNS, mostraron una mejoría del 50% y cinco pacientes alcanzaron remisión total (Rush et al. 2000).

Datos similares se encontraron en pacientes con depresión mayor que recibieron VNS durante 12 meses, en donde se observó que 9 de 14 de ellos, respondieron benéficamente al tratamiento (Conway et al. 2013).

En experimentos con animales, Krahl et al. (2004), estimularon eléctricamente el NV de ratas durante cuatro días, mediante el implante de un electrodo (0.5-ms, 1-mA, 20 Hz, 30 min por día) y las sometió a la prueba de nado forzado para medir un estado de desesperanza, encontrando que las ratas estimuladas redujeron el tiempo de inmovilidad e incrementaron el tiempo de nado; este efecto fue similar a ratas tratadas con desipramina.

En un modelo genético de depresión, se ha encontrado que las ratas Wistar Kyoto presentan altos niveles de adrenocorticotropina (ACTH) debido a una mayor actividad del eje hipotalámico-hipofisiario-adrenal (HHA), similar al que presentan pacientes con depresión (Malkesman y Weller, 2009). En pacientes que han recibido VNS por tres meses, los altos niveles de ACTH disminuyeron significativamente, lo que se correlacionó de manera alta ($R=.84$, con una $N=11$ y $.001$ grados de libertad) con una mejoría en el estado de ánimo (O'Keane et al. 2005).

Importantes esfuerzos se han hecho por dilucidar los mecanismos de acción de la VNS en la depresión, siendo el principal objetivo de estudio el sistema monoaminérgico alterado en pacientes con depresión (Willner et al. 2013).

Dorr y Debonnel (2006), mostraron que la estimulación aguda y repetida del NV en ratas no anestesiadas, provocó un aumento de la tasa de disparo de neuronas noradrenérgicas del LC, mientras que las neuronas serotoninérgicas del núcleo anterior del rafe (NDR) tardaron 14 días en incrementar su tasa de disparo. Algo similar observaron Manta et al. (2009), con el número de espigas por ráfaga de las neuronas del LC y NDR. También, se ha encontrado que la destrucción de neuronas noradrenérgicas y serotoninérgicas suprime el efecto antidepresivo de la VNS observado previo a la destrucción neuronal en una prueba de nado forzado (Furmaga et al. 2011).

La VNS provoca alteraciones en otros neurotransmisores que se ven inmersos en el estado de ánimo, tal es el caso del GABA y del glutamato (Ben-Menachem et al., 1995). Por medio de

estudios de imagen cerebral, se sabe que la VNS afecta el funcionamiento de estructuras límbicas (Henry et al. 1999). Conway et al. (2012), por medio de tomografía por emisión de positrones (PET), encontraron cambios en el flujo sanguíneo de tálamo, CPF, cíngulo, corteza insular, entre otras, después de un protocolo de VNS en pacientes con depresión mayor.

También se ha observado una alteración de los sistemas glutamatérgicos y GABAérgicos en algunos modelos animales de depresión (Holtzheimer et al. 2011). Ibrahim et al. (2012), encontraron un efecto antidepresivo de la ketamina, un antagonista de los receptores NMDA, en pacientes con depresión que no respondieron a la terapia electroconvulsiva. Por otro lado, en 2003, Marrosu et al., encontraron un aumento en la densidad de receptores GABA_A con la técnica de Tomografía Computarizada por Emisión de Fotones Individuales, en pacientes que recibieron VNS durante un año. Esto último podría evidenciar la participación de la VNS en mecanismos diferentes al monoaminérgico en el trastorno depresivo.

KINDLING ELÉCTRICO EN LA CPF_{vm}

El kindling, término acuñado por Goddard et al. (1969), para describir la estimulación eléctrica, repetida y de baja intensidad, aplicada en áreas específicas del SNC, en especial el sistema límbico; induce el desarrollo progresivo de alteraciones conductuales y electroencefalográficas. Inicialmente, sólo se inducen posdescargas focales de corta duración limitadas al sitio de estimulación. Los cambios conductuales que acompañan a este proceso se han clasificado en cinco estadios en la rata, según Racine (1972).

I: Movimientos faciales

II: Movimientos verticales de la cabeza

III: Mioclonias de miembros anteriores

IV: Postura de canguro con extensión del cuerpo en posición vertical

V: Crisis tónico-clónica con pérdida de postura

*0: Nosotros adicionamos fase cero para aquella estimulación que no provoca conducta

Goddard et al. (1969), también estimuló áreas de la *neocorteza* como el área dorsal y concluyó que muy pocas áreas de ésta eran epileptisables, a las que no desarrollaron crisis epilépticas, las definió como “puntos negativos”, sin embargo, no descartó que estas áreas pudieran llegar a generar crisis epilépticas, siempre que el umbral fuera aumentado más de 50 μ a y 60 Hz.

Ma y Leung (2010), Realizaron estimulaciones tipo kindling sobre la CPFvm y encontraron que la estimulación provocaba hiperlocomoción en ratas así como una aparición de ondas gamma, sin embargo sólo tres de ocho animales presentaron crisis fase V de manera intermitente.

LA CORTEZA PREFRONTAL

Se le ha designado corteza prefrontal (CPF) a la parte anterior del extremo del polo de la corteza anterior del cerebro de los mamíferos; definir el funcionamiento de esta área, así como su delimitación fisiológica, ha sido complicado ya que al realizar pequeñas lesiones en diversas áreas de la CPF sobre distintos animales, se han encontrado resultados múltiples. Se piensa que el desarrollo en cuanto a tamaño y función de esta área, ha sido debido a la filogenia; esta área constituye cito-arquitectónicamente sólo el 3.5% en el gato y 11.5% en el chimpancé, mientras que en el humano constituye el 29%, teniendo mayores similitudes los monos y el hombre (Öngur y Price. 2000).

Una de las principales tareas que desempeña esta área cerebral, es la capacidad de planeación, aunque esto no se muestra en todos los mamíferos, sí en los primates. La coherencia y la coordinación de las acciones, son esenciales para que un organismo pueda llevar a cabo su objetivo, es decir, que puedan organizar una acción de manera premeditada para evitar resultados inesperados, ambas acciones son consecuencia de la CPF. La memoria a corto y largo plazo también es necesaria para poder hacer una planeación, ya que es por medio del aprendizaje y recuerdo que los primates pueden predecir y planear. Este tipo de memoria, necesita de la parte sensorial, motora, o ambas y aunque la CPF no es la que se encarga de manera directa de estas acciones, sí funge como un centro de operaciones el cual coordina y procesa, debemos tener en cuenta que si bien cada área cortical tiene una función “dominante”, todas ellas tienen una compleja organización de interdependencia.

El ser humano al llevar a cabo una acción, de forma *inconsciente* recrea momentos similares al que va a efectuar, de esta manera busca reducir riesgos y ahorrar tiempo en un posible ensayo-error, esta representación mental para la planeación, vislumbra la capacidad cognitiva así como la memoria ejecutiva, todo esto con base en experiencias previas; así el circuito de la CPF, no sólo se encarga de las acciones del individuo, sino también de la secuencia de las

mismas, esto nos señala los distintos niveles de acción dentro de esta área (ver El error de Descartes. A. Damasio. 2008).

En el ser humano, se ha demostrado que una lesión en el área lateral de la CPF, genera un déficit no sólo en la capacidad de planeación, sino también en la ejecución.

El primer dato obtenido que demostraba la participación de la CPF en el desempeño de la planeación y ejecución de acciones futuras (toma de decisiones) así como del control de las emociones, fue el de Phineas Gage;

Éste era un hombre al cual describían como una persona trabajadora, hábil, sensata, persistente y enérgica. Era un capataz de 25 años de edad que estaba a cargo de una cuadrilla de construcción de vías férreas. El 13 de septiembre un pison de hierro de 105cm de longitud, 3cm de diámetro y 7 kilos, le atravesó la cabeza entrando debajo del pómulo izquierdo y saliendo por la parte frontal de la cabeza. Gage cayó al suelo convulsionándose, al cabo de unos minutos recuperó la conciencia pudiendo hablar y caminar (fig. 2). La herida le provocó una hemorragia profusa y muchos días de fiebre y delirio arrojando secreciones purulentas por la herida y escupiendo fragmentos óseos y de tejido cerebral infectado.

Cambios a partir del accidente:

El día 32, describe el médico Harlow (quien era el médico a cargo) los primeros cambios de conducta considerándolo caprichoso y pueril. A los dos meses Gage, sale de compras por el pueblo comprando todo lo que se le antoja sin importarle el precio; al poco tiempo de reincorporarse a su trabajo es despedido por su comportamiento errático e irresponsable sin poder conseguir algún otro. En 1852 abandona Nueva Inglaterra para viajar por Chile cuidando caballos y conduciendo una carreta con seis equinos, en 1861 regresa a su país. En San Francisco tuvo el primero de una serie de episodios convulsivos que lo habrían de acompañar hasta la muerte. Phineas Gage murió en estado epiléptico en 1861, doce años y medio después de su histórico accidente. Este es el primer registro acerca de las funciones de la CPFvm (Damasio, 2008).

Más adelante, comenzó una búsqueda para saber cuáles eran los núcleos principales que se encargaban de las emociones, uno de los primeros hallazgos fue el de Bard en 1928, él

experimentó en gatos extirpando ambos hemisferios cerebrales y comprobó que los gatos al despertar de la anestesia tenían un comportamiento de “enojo” presentando el lomo arqueado, gruñidos y latigazos con la cola, a este comportamiento le llamó ira ficticia ya que ese enojo no tenía un objetivo ni una razón directa, con esto, Bard comprobó que se desarrollaba una respuesta emocional directa siempre que el hipotálamo caudal estuviera intacto. Sin embargo, los animales no presentaban las mismas respuestas cuando se seccionaba el encéfalo en la unión del hipotálamo y mesencéfalo. Con estos resultados obtenidos, Bard sugería que mientras la experiencia subjetiva de las emociones dependía de una corteza cerebral intacta, la expresión de los comportamientos emocionales coordinados no implicaba necesariamente procesos corticales, por último también mencionó que los comportamientos emocionales están dirigidos hacia la autopreservación, hipótesis retomada por Antonio Damasio.



Fig 2. El grupo de Antonio Damasio y el grupo de radiología del hospital Brigham and women de Boston construyeron una imagen tridimensional del cerebro de Gage que incluye la trayectoria del pisón de hierro a través de los lóbulos frontales medial y ventral, así como los cambios neuropsicológicos a consecuencia del accidente (Damasio et al. 1994)

En 2005, Kawasaki et al., registraron neuronas dentro de la CPFvm de ambos hemisferios en pacientes que sufrían epilepsia parcial compleja; encontraron que las neuronas registradas participaban en la codificación del significado emocional en una prueba de estímulos visuales y que neuronas solas registradas en esta misma área, responden a estímulos específicos de

aversión, placenteros o neutrales, sin embargo no localizaron áreas específicas dentro de esta estructura que reaccionaran en conjunto.

CONEXIONES DE LA CPFvm

La conexión del tálamo con la CPFvm es una de las más importantes, esta distribuye principalmente la información visual hacia la CPFvm después de haber sido procesada por el núcleo geniculado lateral del tálamo y la corteza visual; por otro lado, la ínsula es otra área que tiene conexiones importantes con la CPFvm, a ésta se le ha relacionado con la modulación del asco y el dolor, de la misma forma, procesa este tipo de información para comunicarla posteriormente a la CPFvm. La corteza del cíngulo, de la misma forma que la ínsula, también se ha relacionado con la respuesta a eventos desagradables de estímulos emocionales, esta envía proyecciones a las áreas ejecutivas autonómicas y motoras (Wenderoth et al. 2005).

Otra área estudiada y muy relacionada con la CPFvm, es la corteza prefrontal dorsolateral (CPFdl), la activación de esta zona en eventos desagradables, refleja las operaciones cognitivas necesarias para una respuesta eficaz, esta es una de las principales áreas de la memoria ejecutiva. También ha sido sitio de interés para el tratamiento de la depresión, se piensa que una baja activación de la CPFdl y una alta activación de la CPFvm, son signos de depresión, por el contrario, si la activación de la CPFdl es alta y la de la CPFvm es baja, se puede interpretar como un signo de recuperación (Kosel et al. 2011).

El hipocampo es otra estructura que tiene una conexión neuronal directa con la CPFvm y también participa en el proceso de toma de decisiones, este se encuentra particularmente relacionado en el condicionamiento contextual del miedo. Se ha encontrado, por medio de estudios de imagen, que una deficiente inhibición hipocampal hacia la CPF coloca a los individuos en un alto riesgo de sufrir desórdenes de ansiedad (Shin et al. 2010). Por otro lado, se ha sugerido que no es todo el Hip el que lleva a cabo esta participación sino únicamente el hipocampo ventral (Adhikari et al. 2010).

EL núcleo caudado y putamen también reciben proyecciones de la CPFvm, estos se encarga de activar los programas motores pertinentes para hacer frente a estímulos emocionales negativos (Grillner et al. 2005).

La amígdala es la principal conexión neuronal de la CPFvm, existe una conexión recíproca entre estos núcleos para regular la toma de decisiones y emociones, principalmente, el miedo. Este núcleo tiene alrededor de 12 subnúcleos (LeDoux, 2000), los principales para llevar a cabo estas regulaciones son el lateral (AL), basal (AB) y central (AC). La AL forma parte esencial en el condicionamiento de estímulos auditivos, Campeau y Davis (1995) demostraron que una lesión en la AL, interfiere en el aprendizaje de un estímulo acústico en el miedo condicionado, mientras que para el miedo condicionado contextual, es necesaria la participación del hipocampo así como la amígdala basolateral (BLA por sus siglas en inglés) mas no la AL (Maren et al. 1997, Canteras y Swanson 1992).

Las vías para las respuestas no condicionadas, son distintas, sin embargo, la AL también es el área principal para este tipo de respuesta, la diferencia podría residir en que el hipocampo no participa en esta respuesta y pareciera estar suplido por la AB, la cual no participa en las respuestas a estímulos condicionados, este último, también recibe aferencias del tálamo posterior. La AC, es también un núcleo muy importante ya que en ambos tipos de respuesta, tiene una participación final dentro de la Am; una lesión en la AC interrumpe la respuesta al estímulo de manera selectiva, por ejemplo, si se daña el área que conecta con el hipotálamo lateral, se afecta la presión sanguínea mas no el *freezing*, en cambio si lo que se afecta es la que conecta con la sustancia gris periacueductual, el *freezing* será el afectado (LeDoux et al. 1988).

Bechara et al. en 1999, realizaron un experimento con pacientes que tenían un daño en la Am como resección de la misma a consecuencia de una encefalitis o en la CPFvm y encontraron que aunque los signos de afección son distintos entre Am y CPFvm, ambas áreas provocan una afección en la toma de decisiones; esta baja capacidad de toma de decisiones, es por la incapacidad de la CPFvm de integrar toda la información somática. Por otro lado, la incapacidad generada por la lesión en la Am, se debe a que, al no tener un correcto funcionamiento la Am, no existe un sistema que prevenga de manera rápida a la CPFvm sobre un suceso que pone en peligro nuestra vida y así la toma de decisión del sujeto, usualmente sería errónea.

Uno de los trabajos más representativos para dilucidar las múltiples conexiones de la CPF en la rata, es el realizado en 2004 por Vertes; en la rata, la CPFvm se divide en infralímbica (InL) y prelímbica (PrL). La región ventral de la corteza medial prefrontal está asociada con

diversos procesos emocionales y cognitivos (Vertes RP, 2004), está también ligada funcional y anatómicamente con el sistema límbico, particularmente la PrL envía proyecciones hacia la BLA (Vertes RP, 2004). La parte más profunda, es decir la infralímbica, está influenciada por la actividad visceral y autonómica (Hardy y Holmes, 1988). Milad y Quirk (2002) también han demostrado la importancia de las células de la InL en el proceso de la extinción del miedo condicionado, proponen que el efecto envuelve la supresión de la InL hacia el núcleo central de la amígdala y como consecuencia, una amortiguación de los centros autonómicos/viscerales que contribuyen en las respuestas del miedo(fig 3).

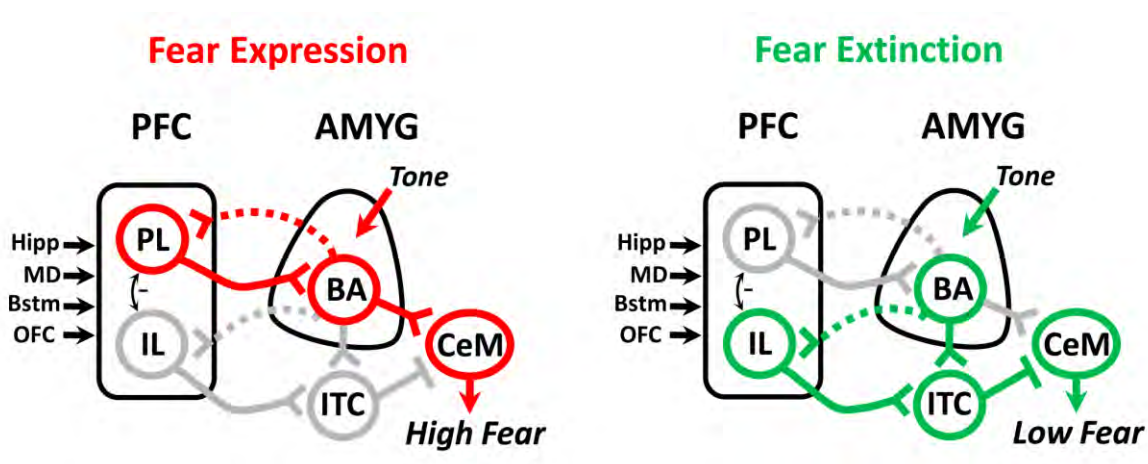


Fig 3. Representación de la integración de información del hipocampo (Hipp), tálamo mediodorsal(MD), monoaminas del tronco cerebral (Bstm) y corteza orbitofrontal (OFC) por la CPF y Am, para determinar si debe prepararse una respuesta de miedo o no. La respuesta de miedo recibe la información por la prelimbica (PL) para mandarla a la amígdala basal (BA), mientras que la inhibición del miedo recibe la información de la infralimbica (IL) que proyecta a las células intercaladas (ITC). La BA excita las neuronas en la división medial del núcleo central de la amígdala (CeM) para producir la respuesta de miedo, si la ITC inhibe a las neuronas eferentes de la amígdala, entonces se inhibirá la respuesta del miedo (Imagen tomada de Sotres-Bayon y Quirk, 2010).

Existe evidencia que indica que la corteza prefrontal de las ratas también se encarga de mantener la información de tareas requeridas a través del tiempo, incluyendo la alternancia retardada (Kesner et al. 1996). Aparentemente la CPFvm de las ratas funciona homológamente de forma generalizada con la región de la corteza prefrontal de los primates en aspectos motrices, emocionales, y cognitivos, y de esta misma forma, aparentemente se homologa de forma suplementaria la PrL con el área dorsal de la CPF y la InL con la orbitomedial de los primates (Vertes, 2004).

Sullivan y Gratton (2002), llevaron a cabo un experimento para comprobar cómo afectaba la lesión en la InL y si había alguna diferencia entre hemisferios; encontraron que las ratas mostraban una alteración en la emoción del asco y ansiedad/miedo y esta alteración sólo se presentó cuando se lesionaba el hemisferio derecho. Cabe mencionar que algunas de las lesiones en las ratas, no sólo abarcaba el área InL sino también la PrL e incluso la dorsal. En ratas, se ha estudiado mucho la relación del miedo con la CPFvm, un daño en la parte dorsal provoca un incremento en la reactividad del miedo (*freezing*) en los estímulos condicionados y en estímulos contextuales (Morgan y LeDoux, 1995).

Se ha visto también el papel de la InL en el miedo condicionado, las neuronas de esta, responden al condicionamiento sólo al día siguiente de la extinción (entrenamiento), sugiriendo que estas neuronas no responden al estímulo condicionado durante el condicionamiento, pero responden cuando la memoria de la extinción, es recuperada (Milad y Quirk, 2002). Morrow et. al., (1999) mostraron que una lesión en las entradas dopaminérgicas de la CPFM, provocan un déficit en la extinción del miedo. El comportamiento agresivo es otra de las variantes que se presenta en animales con alguna manipulación en la CPFvm. Halász et al. (2006), reportaron que ratas sometidas a encuentros agresivos, generan una activación significativamente más alta en la corteza orbital medial y ventral, ínsula granular, corteza infralímbica y prelímbica y cíngulo anterior. Demostraron por medio de activación por C-fos, que el comportamiento agresivo se acompaña de la activación piramidal en distintas zonas de la CPF. Cuando la inhibición se decrementa en la ínsula granular, corteza orbital medial e InL, las ratas muestran una violenta agresión. Estos cambios son inducidos por un decremento en la circulación de glucocorticoides que se asocian a la agresión en los humanos (Halász et. al., 2006).

Por otro lado, se sabe que un defecto en la CPFvm, deteriora la inhibición sobre la amígdala, provocando una actividad desenfrenada de la amígdala generando así, distintos tipos de emociones como diestrés (Milad et al. 2006).

Se ha encontrado que la supresión volitiva de emociones negativas está asociada a una relación inversa entre la CPFvm y la Am, esto en pacientes sanos (Delgado et. al., 2008). Esto es que durante la regulación de las emociones, el incremento de actividad de la CPFvm es asociada al decremento de la actividad amigdalina, así como el decremento de las emociones

negativas (Johnstone et al. 2007). Esto quiere decir que la CPFvm disminuye las emociones negativas a través de la regulación excitación-inhibición sobre la Am.

Etkin y Wager (2007), realizaron un estudio en pacientes con desórdenes de estrés postraumático a los que se les presentaban cincuenta imágenes funcionales para investigar las emociones negativas; con esto, demostraron una significativa hipoactivación dentro de la CPFvm y una hiperactivación de la Am, esto nos podría explicar el porqué de las agresiones/violencia infringida por algunos pacientes psicopáticos.

Otra patología relacionada a la regulación entre Am y CPFvm es la psicopatía; ésta es una enfermedad marcada por disfunciones emocionales como la reducción de culpa y empatía, así como el comportamiento antisocial (Harpur et al. 1988). Existen evidencias de lesiones o alteraciones en Am y CPFvm en pacientes con psicopatías, se ha mostrado que niños con tendencias psicopáticas, muestran una atención emocional relacionada con impedimentos, así como los pacientes con lesiones en la amígdala (Blair, 2008). En el mismo tipo de niños, se probó una reducción en la conexión neuronal entre Am y CPFvm, en comparación con niños control (Marsh et al. 2008). Se ha demostrado por medio de estudios de resonancia magnética que los 10 individuos participantes que han sido diagnosticados con psicopatía, muestran una baja actividad de la amígdala durante el condicionamiento aversivo (Birbaumer et al. 2005).

Pacientes con lesión en la CPFvm presentan una respuesta visceral deficiente cuando se les presentan imágenes estimulantes como se demuestra con la respuesta galvánica de la piel. Este tipo de respuestas compagina con una inhabilidad para tomar decisiones propias de vida. En un esfuerzo para comprender esto, Damasio propone la hipótesis del marcador somático, ésta consiste en una interacción entre las estructuras prefrontales y los sistemas más primitivos de la amígdala y otras zonas límbicas relacionada con ella, plantea así, que no sólo los procesos estrictamente racionales son los encargados de tomar decisiones en nuestra vida cotidiana, esto fundamentalmente por la manifiesta incapacidad de dichos mecanismos racionales para dar una respuesta rápida y adecuada a los problemas que se plantean; es así como las emociones en este espacio, juegan un papel fundamental. Menciona entonces que “ante la existencia de diferentes posibilidades de actuación, la corteza prefrontal es capaz de crear una representación, aunque muy fugaz, de los diversos escenarios que pueden producirse como consecuencia de las distintas decisiones posibles” (Damasio, A. 1996).

El modelo animal, ha permitido explorar de manera más precisa la corteza prefrontal ventromedial y así comprender qué alteraciones conductuales y/o emocionales se pudieran estar gestando ahí. Por otro lado, también nos permite desarrollar un modelo epiléptico por medio del kindling, asemejando un foco epiléptico sobre la corteza prelímbica y su propagación hacia todo el cerebro logrando así, saber de qué forma podría estar participando la VNS en el desarrollo de la epilepsia así como en las alteraciones que competen a la corteza prelímbica

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Planteamiento del problema

En la actualidad, la VNS y la estimulación cerebral profunda, han mostrado resultados benéficos en los desórdenes neuropsiquiátricos como la depresión y la epilepsia, sin embargo, poco se sabe acerca de las alteraciones emocionales que un foco epiléptico en los lóbulos frontales llega a generar y cómo estas alteraciones afectan; como consecuencia de ello, no existen reportes sobre tratamientos alternativos y mucho menos si este tipo de tratamientos pueden tener repercusiones positivas o negativas en cuanto a las emociones y/o toma de decisiones.

Objetivo

Probar el efecto de la VNS en crisis epilépticas de la corteza prefrontal provocadas por la estimulación eléctrica tipo kindling, así como sus repercusiones en la prueba de nado forzado y prueba de sabor aversivo entendidas como tristeza y asco respectivamente.

Hipótesis

1. La VNS retrasará las crisis generalizadas tónico-clónicas generadas por el kindling eléctrico.
2. Se presentará una disminución de la inmovilidad en la FST.
3. No habrá diferencia en el consumo de quinina entre los grupos.

VARIABLES INDEPENDIENTES

Estimulación eléctrica del nervio vago.

Kindling eléctrico de la corteza Prelímbica

VARIABLES DEPENDIENTES

- Número de estimulaciones para alcanzar los distintos estadios conductuales del kindling.
- Duración de la postdescarga de los distintos estadios conductuales del kindling.
- Potencia espectral de la postdescarga de los distintos estadios conductuales del kindling.
- Número de veces que se presentan las conductas de nado, escalamiento e inmovilidad en la FST.
- Consumo de leche endulzada o quinina.

VARIABLES OPERACIONALES:

Kindling eléctrico: estimulación eléctrica por medio de un electrodo implantado en la PrL, se realiza cinco veces al día (tren 5 s a 60 Hz, con pulsos de 1 ms de duración).

FST: Colocación del animal dentro de un cilindro de cristal con agua; la primera ocasión se le deja un tiempo de 15 minutos para generar el estado de desesperanza, se hacen dos pruebas posteriores donde al animal se le deja únicamente cinco minutos cada prueba y ambas pruebas son video grabadas y calificadas posteriormente.

TA: Cambio de las botellas con agua por botellas idénticas con leche endulzada y posteriormente con quinina. Ambos cambios de líquido son pesados antes y después de la prueba para saber la cantidad de líquido ingerido por las ratas.

MATERIAL:

1. aparatos

Aparato estereotáxico para rata (Horsley-Clarke)

Estación de soldar
Cámara de video
Computadoras personales
Criostato (MICROM)
Osciloscopios
Polígrafos Grass (78 D y 78 E)
Estimulador S88
Cilindro de cristal (25cm diámetro, 60cm alto)

2. Material quirúrgico

Instrumental para cirugía
Sutura quirúrgica
Cámara sonoamortiguada para registro
Acrílico dental (Nic-tone)
Cera de hueso
Electrodos en forma de clavo
Electrodos bipolares de acero inoxidable
Electrodos para nervio vago
Gelfoam

3. Sustancias

Antibióticos (Amoxivet SA)
Analgésicos (Butarfanol)
Ketamina
Relajante muscular (Xilazina)
Antisépticos (Agua oxigenada, alcohol, isodine, benzal)
Jabón quirúrgico
Pentobarbital sódico
Quinina
Leche endulzada
Solución salina

Animales:

Se utilizaron 24 ratas macho tipo Wistar con un peso entre 280 y 320 g. El protocolo de producción, cuidado, y uso de los animales fue llevado a cabo de acuerdo a la guía técnica de acuerdo a la NORMA OFICIAL MEXICANA representada por SAGARPA (NOM-062 ZOO-1999) la cual ha sido aprobada por el comité de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz".

Procedimiento quirúrgico:

La cirugía se llevó a cabo bajo anestesia (Ketamina hidroclorada y Xilacina Hidroclorada) intramuscular. Se implantaron electrodos de acero inoxidable en la PrL derecha (AP +3.0, L 0.6, H 3.6), y Am izquierda (AP -2.7, L 4.8, H 8.8) (Paxinos y Watson, 2004). Un electrodo bipolar (diseñado en el laboratorio) fue introducido en el nervio vago, caudal a la laringe. Se implantaron tornillos epidurales en la corteza parietal para hacer registro electroencefalográfico (EEG). Los electrodos fueron soldados a dos miniconectores y fijados al cráneo con acrílico dental. Los animales fueron tratados con analgésico (Butarfanol) y antibiótico (Amoxivet) después del procedimiento quirúrgico (Fig. 4). Posterior a la cirugía, los animales fueron puestos en cajas individuales (50x27x30) a una temperatura de 23-25 grados y 12:12-h de ciclo luz-oscuridad. Todos los animales tuvieron siete días de reposo antes de comenzar con el protocolo de experimentación.

Umbral, estimulación eléctrica y registro:

El umbral de la PrL y del nervio vago fue determinado con un estimulador S88 (Massachusetts) (Fig. 5). Para la PrL, la estimulación se realizó cada cinco minutos aumentando la intensidad de forma gradual hasta que el animal presentara guiño ipsilateral y contracciones faciales acompañadas de una corta postdescarga eléctrica. El umbral del nervio vago fue establecido por la aparición de respuestas vegetativa la cual fue definida como alteración del ritmo respiratorio y contracciones abdominales.

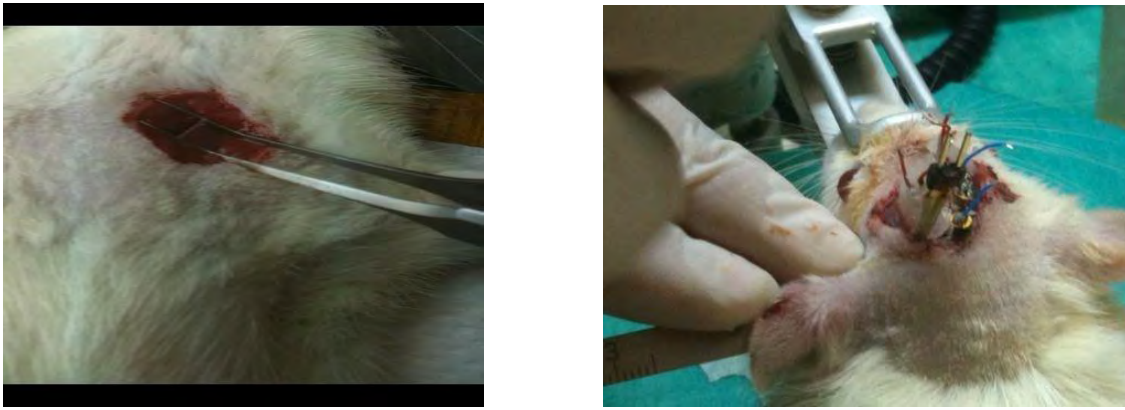


Fig. 4. Imágenes de la cirugía realizada a las ratas para el implante de electrodos. A) Imagen del nervio vago aislado para la colocación del electrodo. B) Imagen de los electrodos ya colocados sobre las distintas regiones del cerebro así como del nervio vago.

La corriente eléctrica fue aplicada en pulsos monofásicos; una vez que el umbral era establecido, al día siguiente se iniciaba el protocolo de estimulación tipo kindling en la PrL (PrL-k), este constaba de cinco estimulaciones por día con intervalos de una hora entre cada estímulo (tren 5 s a 60 Hz, con pulsos de 1 ms de duración) hasta que el animal llegara a una crisis tónico-clónica. La VNS se realizó diez veces cada día con una duración de un minuto (30 Hz, .5 ms de duración) e intervalos de cinco minutos, con ayuda de un estimulador S88 (Grass, Massachusetts) (Fig. 6).

La actividad eléctrica cerebral fue registrada en un polígrafo modelo 78 D (Grass, Massachusetts). La señal fue amplificada y se filtró con un *pasabanda* de 3 a 60 Hz, digitalizado a 300 muestreos por segundo y almacenados en un disco para su posterior análisis. Posteriormente, se hizo una transformación rápida de Fourier (FFT) en épocas de 1 m tomados del EEG (fig 5).

Los animales fueron asignados a uno de los tres grupos experimentales (Fig. 6):

- Grupo VNS: Recibió 120 trenes de estimulación en 12 días.
- Grupo PrL-K: Recibió 60 estimulaciones tipo kindling en la corteza prelímbica durante 12 días.
- Grupo VNS/PrL-K: Recibió VNS y PrL-K de manera concomitante.



Fig. 5. Imagen fotográfica del set de registro y estimulación eléctrica. A) muestra la caja donde permanecía el animal durante el tiempo de estimulación tipo kindling así como la VNS. B) Muestra el polígrafo con el cual se hizo el registro electroencefalográfico de los animales. C) convertidor analógico/digital para la realización del análisis posterior y la transformada rápida de Fourier.

Prueba de nado forzado (FST por sus siglas en inglés)

El procedimiento utilizado es el descrito previamente por Detke et al. (1997), modificado. Todos los animales fueron colocados inicialmente en un cilindro de cristal (25 cm de diámetro y 60 cm de alto) de forma individual, con agua a una temperatura de $25^{\circ} \pm 1^{\circ}$.

La prueba constó de tres sesiones:

- Pre-test (tratamiento depresor) que consistió en colocar a las ratas en el cilindro con agua durante 15 min previo a la cirugía.

- Primer nado: Se llevó a cabo después del periodo de recuperación. Se les sometió a 5 min de nado forzado, la prueba fue videograbada para su posterior análisis.

·Segundo nado: Fue el último y se realizó 24 horas después de administrar la última estimulación de VNS y/o PrL-K. Al igual que en el primer nado, las ratas fueron sometidas a 5min de nado forzado y fueron videograbadas de la misma forma.

Todas las FST se realizaron entre las 8 y las 10 am.

Prueba de aversión (TA por sus siglas en ingles)

Ocho horas después de la sesión de la FST, se iniciaba la TA; los animales eran privados de agua por 16 hrs, posteriormente se reemplazaba el agua natural de las botellas por leche endulzada (Lechera, Nestle, México _{MR}) diluida 4ml de leche por 12ml de agua; las botellas eran pesadas antes y después de realizar la prueba con el propósito de cuantificar el consumo del líquido. Para probar la aversión, se realizaba la misma privación de líquido y el agua natural era reemplazada por 0.01% de quinina diluida (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), las botellas con quinina eran igualmente pesadas antes y después de la prueba. La TA se realizó antes de comenzar el protocolo de estimulación eléctrica y al finalizarlo.

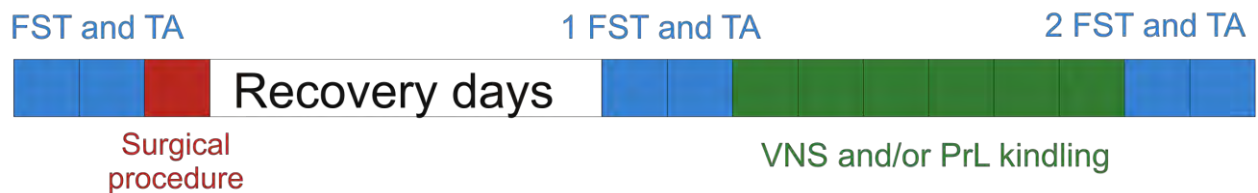


Fig. 6. Protocolo de experimentación, cada cuadro representa un día excepto el cuadro blanco que indica los 7 días de recuperación de los animales. Prueba de nado forzado (FST). Prueba de aversión (TA). Los números indican el número de prueba

Análisis de estadios conductuales e histología

La actividad eléctrica cerebral fue grabada durante todo el experimento. Las FST se videograbaron y se calificó el tiempo de nado, escalamiento e inmovilidad que presentó cada rata, este análisis se realizó bajo el método de observación, tiempo y muestreo.

El cambio de comportamiento de las ratas en la estimulación tipo kindling, fue calificado con base en la escala de Racine (1972). Después de que los animales presentaron crisis generalizadas tónico-clónicas, fueron sacrificados por medio de una perfusión transcardial con solución salina (0.9%) y paraformaldehído (10%). La verificación histológica del lugar estimulado fue evaluada con el método de Nissl (fig. 7). Los animales donde el electrodo quedó fuera de sitio, no se consideraron para este análisis.

Análisis estadístico

Estadios conductuales del kindling, FST y TA, fueron evaluados con análisis de varianza de una vía y *post hoc* Bonferroni para determinar la diferencia entre grupos. La diferencia significativa se consideró una $p < 0.05$.

RESULTADOS

El umbral para inducir una posdescarga como consecuencia de la estimulación de la PrL en el grupo de la PrL-K, fue de $311 \pm 180 \mu\text{A}$ y 286 ± 157 para el grupo de VNS/PrL-K. El desarrollo conductual de las crisis epilépticas en ambos grupos, fueron marcadamente diferentes. Únicamente el grupo VNS/PrL-K desarrolló crisis fase V después de haber recibido un promedio de 50.0 ± 19.7 . A diferencia de los animales a los que se les realiza kindling eléctrico en el lóbulo temporal, el desarrollo de estos fue rápido y las fases no se presentaron de manera lineal/consecutiva. Por otro lado, el grupo PrL-K nunca presentó una crisis fase V, sin embargo, en los primeros días de estimulación, estos animales llegaron a presentar hasta fase IV (Fig. 8C). Un hallazgo sorprendente fue que los animales de este último grupo, presentaron crisis generalizadas y parciales de manera espontánea (Fig. 8B).

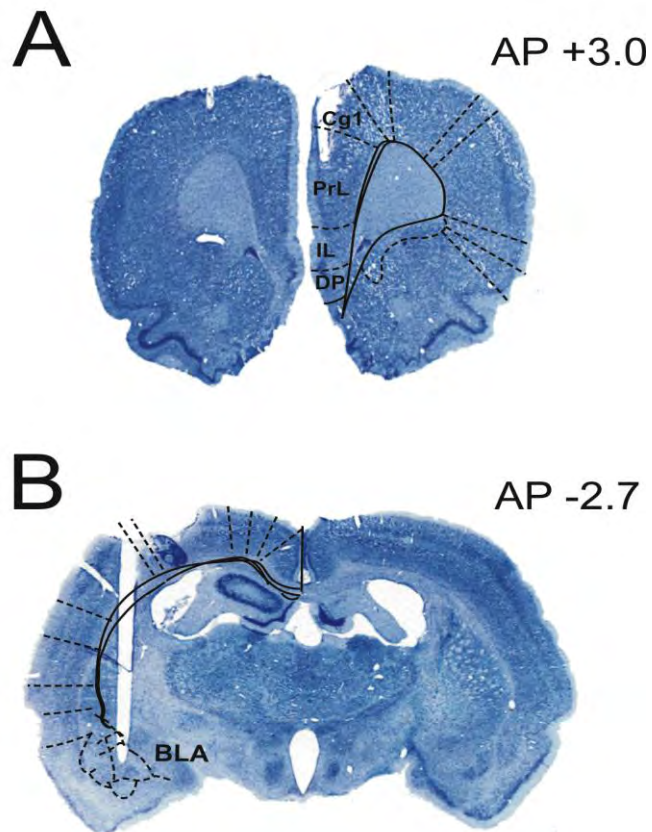


Fig. 7. A) localización del electrodo para estimulación en el área prelímbica B) Localización del electrodo para estimulación en la amígdala. Los números del lado derecho muestran la distancia del bregma. Cg1, corteza cingulada 1; PrL, área prelímbica; IL, área infralímbica; DP, corteza peduncular dorsal; BLA, núcleo de la amígdala lateral.

Los animales que fueron tratados únicamente con VNS o PrL-K no mostraron efectos antidepresivos en la segunda FST. En contraste, el grupo VNS/PrL-K el cual recibía estimulación eléctrica en el nervio vago y en la PrL, sí presentó un efecto antidepresivo; estos animales, mostraron una disminución en el tiempo de inmovilidad y un aumento significativo en el tiempo de nado y escalamiento. Adicionalmente, el grupo PrL-K y el VNS/PrL-K consumieron más leche endulzada después de la FST, sin embargo, cuando se remplazaba la leche por quinina, los animales del grupo VNS/PrL-K redujeron su consumo casi a la mitad (fig. 10). De cualquier forma este último resultado sólo se muestra como tendencia ya que no hubo una diferencia significativa.

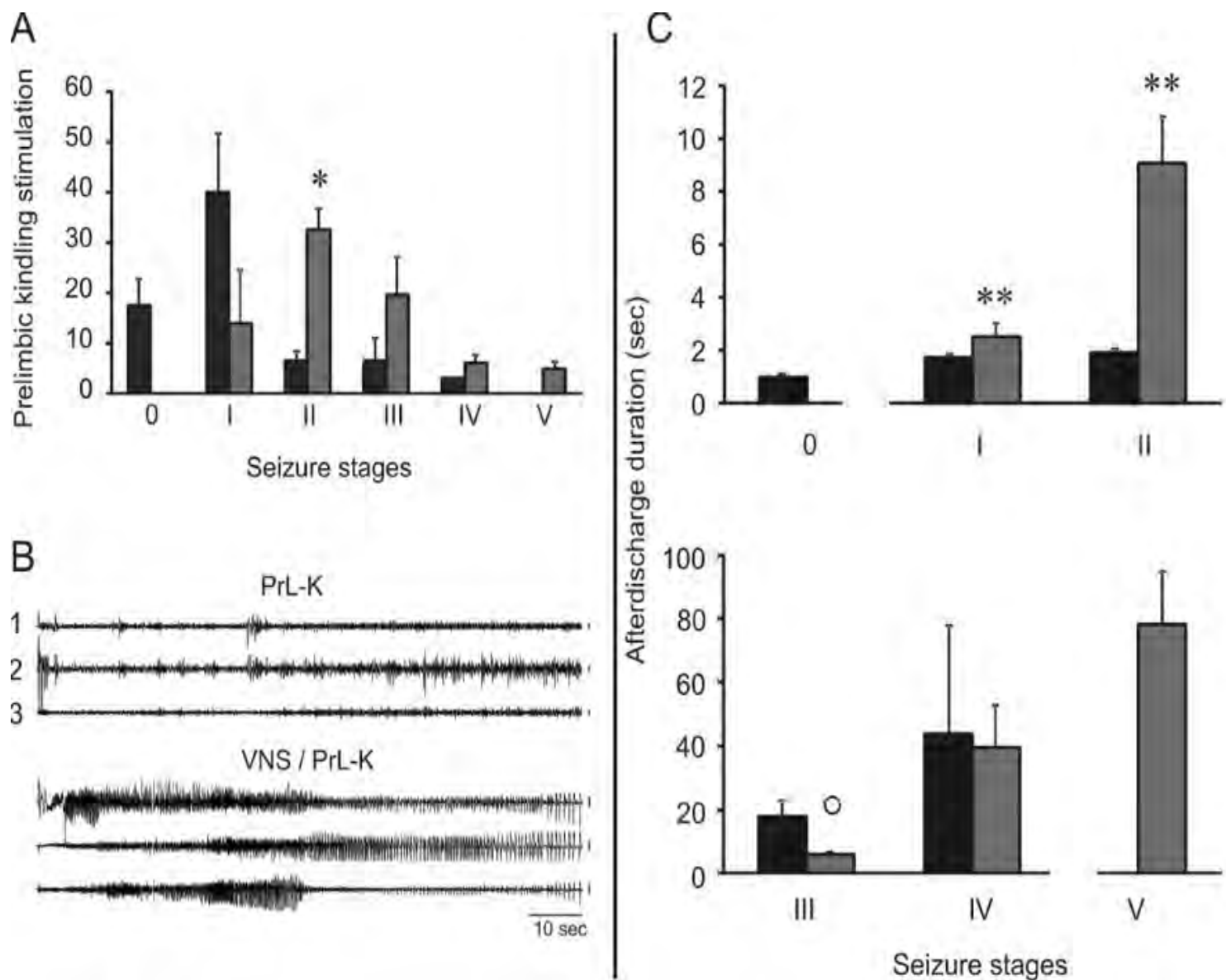


Fig. 8. A) Se muestra la comparación del número de estimulaciones tipo kindling en la PrL y el desarrollo de fases epilépticas (I-V) entre el grupo PrL-K (barras negras) y el VNS/PrL-K (barras grises). El grupo PrL-K no mostró cambios conductuales por momentos y estos fueron considerados como fase 0 y tampoco presentaron crisis fase V. El grupo VNS/PrL-K mostró un aumento significativo en la fase II (* $p < 0.029$). B) registros representativos de crisis parciales (fase I y II) del grupo PrL-K y crisis generalizadas tónico-clónicas del grupo VNS/PrL-K. C) duración de postdescarga (I-V). Se nota un aumento significativo en la postdescarga de las fases II y III, y una disminución en la fase III en el grupo VNS/PrL-K (** $p < 0.002$; $o p < 0.001$). 1. Prelímbica derecha; 2. Amígdala izquierda; 3. Corteza parietal derecha.

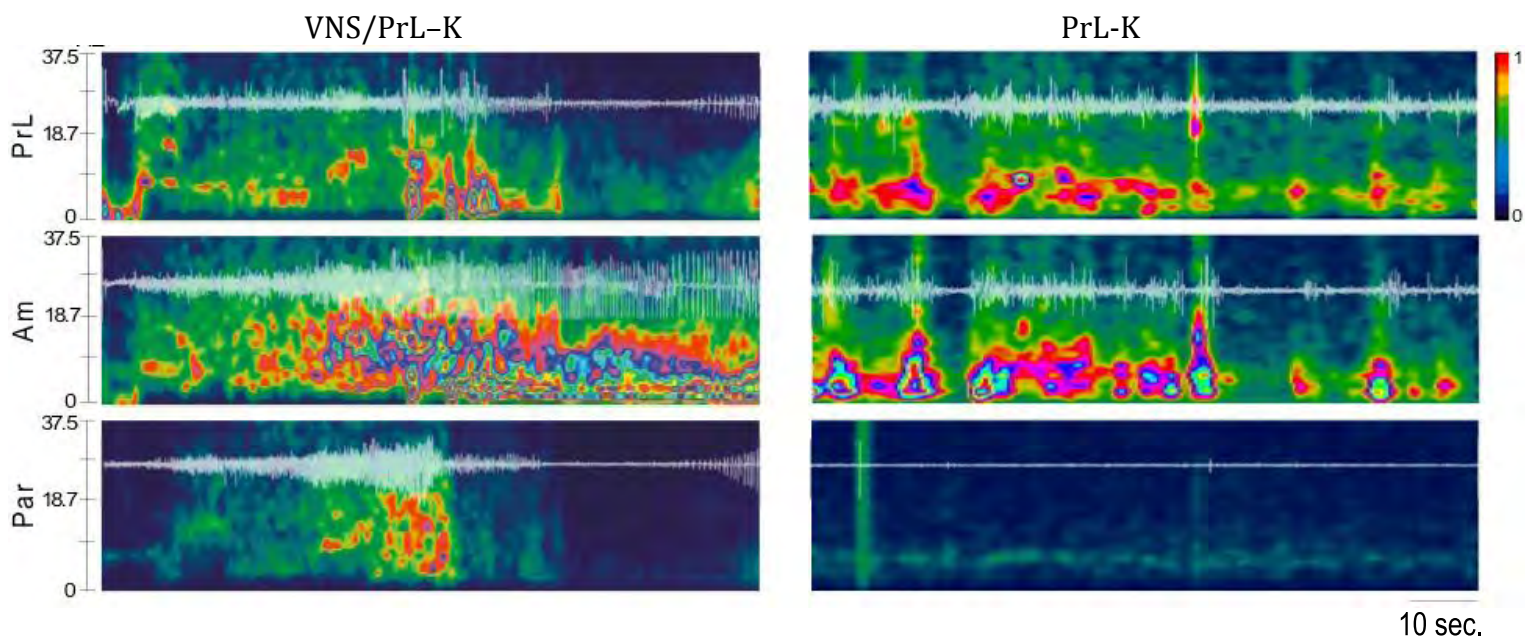


Fig. 9. Análisis de FFT realizado para localizar las frecuencias dominantes en los 100 segundos posteriores al kindling. Los colores cálidos muestran donde se encuentra la mayor actividad neuronal mientras que los colores fríos señalan los Hz donde hay muy poca actividad neuronal. Nótese un aumento de actividad en el grupo VNS/PrL-K comparado con el grupo PrL-K. PrL (Prelimbica), Par. (Parietal), Am (Amígdala), Hz (Hertzios).

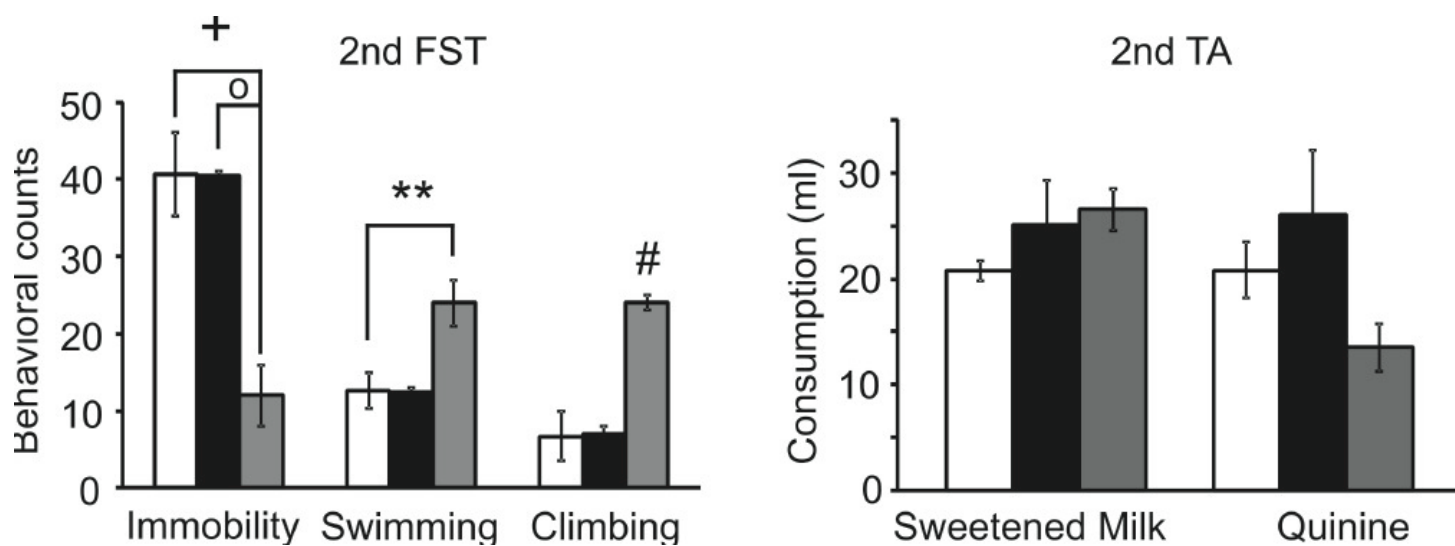


Fig. 10. Conducta de las ratas en la FST y TA aplicadas después de la última estimulación. Se muestra un incremento en el nado y escalamiento y una disminución en la inmovilidad en la FST en el grupo VNS/PrL-K. En la TA, fueron medidos los mililitros consumidos de leche endulzada o quinina. El grupo VNS/PrL-K consumió menos quinina que los otros dos grupos. Barras blancas, grupo VNS; barras negras, grupo PrL-K; barras grises VNS/PrL-K. ** p < 0.04; # p < 0.002; + p < 0.008; o p < 0.013

Discusión

El principal hallazgo de esta investigación fue que la VNS no tiene efectos anticonvulsivos cuando provocamos un foco epiléptico en la PrL, por otro lado, encontramos que la VNS concomitante con la PrL-K produce un efecto antidepresivo.

El procedimiento de kindling muestra diferencias según el sitio en el que se realiza. La corteza frontal y prefrontal muestran una posdescarga muy larga, sin embargo, muestran una inconsistencia en los estadios conductuales (Seidel y Corcoran, 1986). En los resultados obtenidos en esta investigación, encontramos que el grupo PrL-K no presentó crisis convulsivas (estadios III al V). Ma et al. (2010), encontró que el kindling sobre la CPFvm provoca hiperlocomoción. Estos resultados sugieren que la PrL no es un sitio para generar la propagación de una crisis secundaria generalizada, pareciera que su importancia consiste en la expresión de crisis convulsivas en los primeros estadios.

Ha sido demostrado que la VNS tiene un efecto protector en distintos modelos de epilepsia experimental. En nuestra investigación, encontramos que la VNS favorece la epileptogénesis provocada por kindling eléctrico en la PrL. Dedeurwaerder et al. (2006), reportó que la VNS no interfiere en la epileptogénesis de ratas con predisposición genética. Así también, se ha comprobado que la VNS no genera ningún efecto anticonvulsivo cuando los animales se encuentran en una fase de kindling avanzado. Por otro lado, el uso clínico de la VNS no tiene efecto sobre pacientes con un foco epiléptico en el lóbulo frontal (Lazlow et al. 2012), y en algunos casos, ha agravado el tipo de crisis (Koutromanidis M et al. 2000; Bao et al. 2011). Así, los resultados de esta investigación sugieren una reconsideración de la VNS en epilepsia del lóbulo frontal.

Una posible explicación para este efecto paradójico es que la VNS incrementa la concentración de norepinefrina (NE) (Follesa et al. 2007); la supresión de las crisis convulsivas por medio de la VNS dependen de la liberación de la NE (Krahl et al. 1998); de manera inversa, se ha reportado que altas dosis de imipramina generan actividad epileptogénica (Koella et al. 1979), este antidepresivo tricíclico inhibe la recaptura de la NE y SE, sin embargo, sólo la NE está envuelta en la generación de la actividad epileptogénica generada por el modelo de kindling amigdalino (Ago et al. 2006). En esta investigación, los animales muestran un incremento significativo en los estadios II durante los estímulos tipo kindling esto podría estar

demostrando que la VNS puede incrementar la liberación de NE y a su vez, generar un efecto profiláctico demorando la aparición de crisis parciales.

Ha sido demostrada la efectividad de la VNS como antidepresivo en la FST (Krahl et al. 2004). Así también, Hamani et al. (2010), reportó un efecto antidepresivo después de estimular la PrL. Nuestros resultados indican que la estimulación concomitante de la VNS y la PrL, incrementan el efecto antidepresivo producido por la VNS o la PrL de manera individual. Este efecto antidepresivo podría estar generado por el incremento de flujo sanguíneo cerebral (IFSC) en la corteza prefrontal dorsolateral (CPFdl) producido por la VNS (Kosel et al. 2011) y probablemente el kindling sobre la PrL induzca una disminución de actividad en la CPFvm. Los bajos niveles de actividad de la CPFdl y altos niveles de la CPFvm son signos descriptivos de la depresión (Koenings y Grafman, 2009). Por otro lado, la estimulación profunda de la CPFvm y la VNS, provocan un aumento de dopamina, noradrenalina y serotonina (Hamani et al. 2012; Rosenkranz y Grace, 2002), estos cambios podrían explicar el efecto antidepresivo en nuestros resultados.

La depresión ha sido identificada como la enfermedad psiquiátrica con mayor comorbilidad en pacientes epilépticos, de cualquier forma, los efectos del kindling eléctrico en la conducta de depresión, son controversiales. En estudios previos, Helfer et al. (1996), y Wintink et al. (2003) no encontraron cambios en la FST ni en la prueba de preferencia de sabor en animales previamente kindleados. En comparación, otros trabajos han demostrado que la realización del *kindling rápido* sobre el Hip en ratas jóvenes, induce cambios en FST y de preferencia de sabor. En los resultados presentes, hemos encontrado cambios en ambas pruebas realizadas, tanto en FST como en TA, sin embargo, únicamente en la FST se encontraron cambios significativos. La VNS activa el IFSC en el Hip, Tálamo, Corteza insular, corteza orbitofrontal, así como otras estructuras (Henry et al. 2004). La TA es mediada por la corteza insular, la cual proyecta hacia la InL. La estimulación concomitante del nervio vago y la PrL, probablemente modifican la excitabilidad de estas estructuras para producir una respuesta emocional al estímulo aversivo.

Conclusión:

En conclusión, los hallazgos en esta investigación son: (1) La VNS no ejerce un efecto protector en crisis epilépticas del área prelímbica, y puede tener efectos excitadores en el cerebro. (2) La estimulación concomitante del nervio vago y la PrL, inducen una reducción en el tiempo de inmovilidad, adicionalmente, los animales se vuelven más sensitivos a los saborizantes aversivos. Más allá, los estudios electrofisiológicos son necesarios para evaluar el rol de la VNS en la epilepsia del lóbulo frontal y poder determinar los mecanismos de acción de la VNS en tratamientos de epilepsia o depresión, además, para investigar los mecanismos antidepressivos, la integración del aprendizaje de los cambios emocionales y/o la selección los motores de acción apropiados por la estimulación profunda. Hacen falta más estudios que puedan determinar el efecto de la VNS en desordenes de epilepsia asociados con los desordenes depresivos.

Referencias:

1. Aalbers M, Vles J, Klinkenberg S, Hoogland G, Majoie M, Rijkers K. 2011. Animal models for vagus nerve stimulation in epilepsy. Exp Neurol; 230:167-175.
2. Adhikari A, Topiwala MA, Gordon JA. 2010. Synchronized activity between the ventral hippocampus and the medial prefrontal cortex during anxiety; Neuron; 65: 257-269.
3. Ago J, Ishikawa T, Matsumoto N, Rahman A, Kamei Ch. 2006. Mechanism of imipramine-induced seizures in amygdala-kindled rats. Epilepsy Res; 72:1-9.
4. Agostoni E, Chinnock JE, De Daly MB, Murray JG. 1957. Functional and histological studies of the vagus nerve and its branches to the heart, lungs and abdominal viscera in the cat. J. Physiol; 135:182-205.
5. Bao M, Zhou J, Luan G. 2011. Treatment of drug-resistant epilepsy with vagus nerve stimulation review of 45 cases. Chin Med J; 124:4184-4188.
6. Bard P. A diencephalic mechanism for the expression of rage with special reference to the sympathetic nervous system. 1928. Am J of physiology; 84:490-515.
7. Bechara A, Damasio H, Damasio AR, Lee GP. 1999. Different contributions of the human Amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision making. Jneurosci; 19:5473-5481.
8. Beekwilder JP, Beems T. 2010. Overview of the clinical applications of vagus nerve stimulation. J Clin Neurophysiol; 27:130-138.
9. Ben-Menachem E, Hamberger A, Hedner T, Hammond EJ, Uthman BM, Slater J, Treig T, Stefan H, Ramsay RE, Wernicke JF. 1995. Effects of vagus nerve stimulation on amino acids and other metabolites in the CSF of patients with partial seizures. Epilepsy Res; 20:221-227.
10. Birbaumer N, Veit R, Lotze M, Erb M, Hermann B, Grodd W, Flor H. 2005. Deficient Fear Conditioning in Psychopathy A Functional Magnetic Resonance Imaging Study. JAMA psychiatry; 62:799-805.
11. Blair R. 2008. The amygdala and ventromedial prefrontal cortex: functional contributions and dysfunction in psychopathy. The royal society; 363:2557-2565.
12. Campeau S, Davis M. 1995. Involvement of the central nucleus and basolateral complex of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. J. Neurosci; 15:2301-11.
13. Canteras NS, Swanson LW. 1992. Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus: a PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. J. Comp. Neurol; 324:180-94.
14. Conway CR, Chibnall JT, Gebara MA, Price JL, Snyder AZ, Mintun MA, Craig AD, Cornell ME, Perantie DC, Giuffra LA, Bucholz RD, Sheline YI. 2013. Association of cerebral metabolic activity changes with vagus nerve stimulation antidepressant response in treatment-resistant depression. Brain Stimul; 6:788-797.

15. Conway CR, Sheline YI, Chibnall JT, Bucholz RD, Price JL, Gangwani S, Mintun MA. 2012. Brain blood-flow change with acute vagus nerve stimulation in treatment-refractory major depressive disorder. Brain stimul; 5:163-171.
16. Dale HH. 1914. The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. J Pharm Exp Ther; 6:147-90.
17. Damasio A, Everitt B, Bishop D. 1996. The Somatic Marker Hypothesis and the Possible Functions of the Prefrontal Cortex [and Discussion]; Philosophical transactions of the royal society:351;1413-1420.
18. Damasio A. 2008. El error de Descartes. 5ta edición Barcelona. Drakontos bolsillo.
19. Damasio H, Grabowski TJ, Frank RJ, Galaburda AM, Damasio AR. 1994. The Return of Phineas Gage: Clues About the Brain from the Skull of a Famous Patient. Science; 20;1102-1105.
20. Dedeuwaerder S, Vonck K, Claeys P, Van Hese P, D'Havé P, Grisar T, Naritoku D, Boon P. 2004. Acute vagus nerve stimulation does not suppress spike and wave discharges in "Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg" Epilepsy Res; 59:191-198.
21. Delgado M, Nearing K, LeDoux J, Phelps E. 2008. Neural Circuitry Underlying the Regulation of Conditioned Fear and Its Relation to Extinction. Neuron; 59:829-838.
22. Detke MJ, Johnson J, Lucki I. 1997. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. Exp Clin Psychopharmacol; 5:107-112.
23. Dorr AE, Debonnel G. 2006. Effect of vagus nerve stimulation on serotonergic and noradrenergic transmission. J Pharmacol Exp Ther; 318: 890-898.
24. DSM-IV-TR: Breviario: Criterios diagnósticos. 2004. American Psychiatric Association.
25. Elger G, Hoppe C, Falkai P, Rush AJ, Elger CE. 2000. Vagus nerve stimulation is associated with mood improvements in epilepsy patients. Epilepsy Res; 42: 203-210.
26. Elliot RE, Morsi A, Tanweer O, Grobelny B, Geller E, Carlson C, Devinsky O, Doyle WK. 2011. Efficacy of vagus nerve stimulation over time: Review of 65 consecutive patients with treatment-resistant epilepsy treated with VNS > 10 years. Epilepsy Behav; 20:478-483.
27. Etkin A, Wager T. 2007. Functional Neuroimaging of Anxiety: A Meta-Analysis of Emotional Processing in PTSD, Social Anxiety Disorder, and Specific Phobia. American J of psychiatry; 164:1476-1488.
28. Feinstein B, Gleason CA, Libet B. 1989. Stimulation of locus coeruleus in man. Preliminary trials for spasticity and epilepsy. Stereotact funct neurosurg; 52:26-41.
29. Fernández-Guardiola A, Martínez A, Valdés-Cruz A, Magdaleno- Madrigal VM, Martínez D, Fernández-Mas R. 1999. Vagus nerve prolonged stimulation in cats: effects on epileptogenesis (amygdala electrical kindling): behavioral and electrographic changes. Epilepsia; 40:822-9.

30. Fisher RS, Embde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J Jr. 2005. Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). Epilepsia; 46:470-472.
31. Foley JO, Dubois F. 1937. Quantitative studies of the vagus nerve in the cat. The ratio of sensory to motor fibers. J. Comp. Neurol; 67:49-97.
32. Follesa P, Biggio F, Gorini G, Caria S, Talani G, Dazzi L, Puligheddu M, Marrosu F, Biggio G. 2007. Vagus nerve stimulation increases norepinephrine concentration and the gene expression of BDNF and bFGF in the rat brain. Brain Res; 1179:28-34.
33. Furmaga H, Shah A, Frazer A. 2011. Serotonergic and noradrenergic pathways are required for the anxiolytic-like and antidepressant-like behavioral effects of repeated vagal nerve stimulation in rats. Biol Psychiatry; 70:937-945.
34. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK. A. 1969. Permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. Exp Neurol; 25:295-330.
35. Grillner S, Hellgren J, M.nard A, Saitoh K, Wikstr.m MA. 2005. Mechanisms for selection of basic motor programs –roles for the striatum and pallidum. Trends Neurosci; 28:364-70.
36. Hamani C, Diwan M, Macedo CE, Brandão ML, Shumake J, Gonzalez-Lima F, Raymond R, Lozano AM, Fletcher PJ, Nobrega JN. 2009. Antidepressant-like effects of medial prefrontal cortex deep brain stimulation in rats. Biol Psychiatry; 67:117-124.
37. Hamani C, Machado DC, Hipólido DC, Dubiela FP, Suchecki D, Macedo CE, Tescarollo F, Martins U, Covolan L, Nobrega JN. 2012. Deep brain stimulation reverses anhedonic-like behavior in a chronic model of depression: Role of serotonin and brain derived neurotrophic factor. Biol Psychiatry; 71:30-35.
38. Hardy SGP, Holmes DE. 1988. Prefrontal stimulus-produced hypotension in rat. Exp brain res; 73:249-255.
39. Harpur T, Hare R, Hakstian A. 1989. Two-factor conceptualization of psychopathy: Construct validity and assessment implications. Journal of Consulting and Clinical Psychology; 1:6-17
40. Helfer V, Deransart C, Marescaux C, Depaulis A. 1996. Amygdala kindling in the rat: anxiogenic-like consequences. Neuroscience; 73:971-978.
41. Henry TR, Votaw JR, Pennell PB, Epstein CM, Bakay RA, Faber TL, Grafton ST, Hoffman JM. 1999. Acute blood flow changes and efficacy of vagus nerve stimulation in partial epilepsy. Neurology; 52:1166-1173.
42. Henry TR, Bakay RAE, Pennell PB, Epstein ChM, Votaw JR. 2004. Brain blood-flow alterations induced by therapeutic vagus nerve stimulation in partial epilepsy: II. Prolonged effects at high and low levels of stimulation. Epilepsia; 45:1064-1070.
43. Holtzheimer PE, Mayberg HS. 2011. Stuck in a rut: rethinking depression and its treatment. Trends Neurosci.

44. Ibrahim L, Diazgranados N, Franco-Chaves J, Brutsche N, Henter ID, Kronstein P, Moaddel R, Wainer I, Luckenbaugh DA, Manji HK, Zarate CA Jr. Course of Improvement in Depressive Symptoms to a Single Intravenous Infusion of Ketamine vs Add-on Riluzole: Results from a 4-Week, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. 2012. Neuropsychopharmacology; 37:1526-1536.
45. Halász J, Máté Tóth, Imre Kalló, Zsolt Liposits, József Haller. 2006. The activation of prefrontal cortical neurons in aggression—A double labeling study. Behav Brain Res; 175:166-175.
46. Jiménez-Estrada I. (1998) Inhibición central: historia de un concepto fisiológico. SMCE; 3: 13-6.
47. Johnstone T, Reekum C, Urry H, Kalin N, Davidson R. 2007. The J of neuroscience; 27:8877-8884.
48. Kawasaki, Adolphs R, Oya H, Kovach C, Damasio H, Kaufman O, Howard M, 2005. Analysis of Single-Unit Responses to Emotional Scenes in Human Ventromedial Prefrontal Cortex. J Cogn Neurosci; 17:1509-1518.
49. Kesner RP, Hunt ME, Williams JM, Long JM. 1996. Prefrontal cortex and working memory for spatial response, spatial location, and visual object information in the rat. Cereb cortex; 6:311-318.
50. Koella WP, Glatt A, Klebs K, Dürst T. 1979. Epileptic phenomena induced in the cat by the antidepressants maprotiline, imipramine, clomipramine, and amitriptyline. Biol Psychiatry; 14:485-497.
51. Koenings M, Grafman J. 2009. The functional neuroanatomy of depression: distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. Behav Brain Res; 201:239-243.
52. Kosel M, Brockmann H, Frick C, Zobel A, Schlaepfer TE. 2011. Chronic vagus nerve stimulation for treatment-resistant depression increases regional cerebral blood flow in the dorsolateral prefrontal cortex. Psychiatry Res; 191:153-159.
53. Koutromanidis M, Hennessy MJ, Binnie CD, Polkey CE. 2000. Aggravation of partial epilepsy and emergence of new seizure type during treatment with VNS. Neurology; 55:892-893.
54. Krahl SE, Clark KB, Smith DC, Browning RA. 1998. Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation. Epilepsia; 39:709-714.
55. Krahl SE, Senanayake SS, Handforth A. 2001. Destruction of peripheral C- fibers does not alter subsequent vagus nerve stimulation-induced seizure suppression in rats. Epilepsia; 42:586-9.
56. Krahl SE, Senanayake SS, Pekary AE, Sattin A. 2004. Vagus nerve stimulation (VNS) is effective in a rat model of antidepressant action. J Psychiatr Res; 38:237-240.

57. Lanska DJ, JL 2002. Corning and vagal nerve stimulation for seizures in the 1880s. Neurology; 58:452-9.
58. Lazlow SP, Thadani VM, Gilbert KL, Morse RP, KA Bujarski, Kulandaivel K, Roth RM, Scott RC, Roberts DW, Jobst BC. 2012. Outcome of frontal lobe epilepsy surgery. Epilepsia; 53:1746-1755.
59. LeDoux JE, Iwata J, Cicchetti P, Reis DJ. 1988. Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. J Neurosci; 8:2517-2529
60. LeDoux JE. 2000. Emotions circuits in the brain. Annu rev neurosci; 23:155-184.
61. Loewi O. 1921. Über humorale Übertragbarkeit der hertznernenwirkung. Archive feur die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere; 129: 239.
62. Ma J, Leung LS. 2010. Kindled seizure in the prefrontal cortex activated behavioral hyperactivity and increase in accumbens gamma oscillations through the hippocampus. Behav Brain Res; 206:68-77.
63. Malkesman O, Weller A. 2009. Two different putative genetic animal models of childhood depression—A review. Prog Neurobiol; 88; 153-169.
64. Magdaleno-Madrigal VM, Valdés-Cruz A, Martínez-Vargas A, Martínez A, Almazán 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: 964-969.
65. Magdaleno-Madrigal VM, Martínez-Vargas A, Valdés-Cruz A, Almazán S, Fernández-Mas R. 2010. Preemptive effect of nucleus of the solitary tract stimulation on amygdaloid kindling in freely moving cats. Epilepsia; 51:438-444.
66. Manta S, Dong J, Debonnel G, Blier P. 2009. Enhancement of the function of rat serotonin and norepinephrine neurons by sustained vagus nerve stimulation. J Psychiatry Neurosci; 34:272-280.
67. Maren S, Aharonov G, Fanselow MS. 1997. Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. Behav. Brain Res; 88:261-74.
68. Marrosu F, Serra A, Maleci A, Puligheddu M, Biggio G, Piga M. 2003. Correlation between GABA_A receptor density and vagus nerve stimulation in individuals with drug-resistant partial epilepsy. Epilepsy Res; 55:59-70.
69. Marsh A, Finger E, Mitchell D, Reid M, Sims M, Kosson D, Towbin K, Leibenluf E, Pine D, Blair R. 2008. Reduced Amygdala Response to Fearful Expressions in Children and Adolescents With Callous-Unemotional Traits and Disruptive Behavior Disorders; American J of Psychiatry;165-712-720.
70. Milad MR, Quirk GJ. 2002. Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. Nature; 420:70-74.

71. Morgan, Maria A, LeDoux J. 1995. Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. Behav Neuroscience. 109:681-688.
72. Morrow B, Elsworth J, Inglis F, Roth R. 1999. An Antisense Oligonucleotide Reverses the Footshock-Induced Expression of Fos in the Rat Medial Prefrontal Cortex and the Subsequent Expression of Conditioned Fear-Induced Immobility. The J of neuroscience; 19:5666-5673.
73. Organización Mundial de la Salud (2009) Nota descriptiva No. 999. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/es/>. Revisado el 01.05.14 a las 22 hrs.
74. Organización Mundial de la Salud (2012) Nota descriptiva No. 369 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/es/index.html> Revisado el 01.05.14 a las 22 hrs.
75. O'Keane V, Dinan TG, Scott L, Corcoran C. 2005. Changes in hypothalamic-pituitary-adrenal axis measures after vagus nerve stimulation therapy in chronic depression. Biol psychiatry; 58:963-968.
76. Öngür D, Price JL. 2000. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. Cerebral Cortex; 10:206-219.
77. Paintal AS. 1973. Sensory mechanisms involved in the Bezold-Jarisch effect. Aust. J Biol. Med. Sci; 51:3-15.
78. Paxinos G, Watson C. 2004. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5th edition, New York, Academic Press.
79. Penry JK, Dean JC. 1990. Prevention of intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans: Preliminary results. Epilepsia; 31:40-3.
80. Raedt R, Clinckers, Mollet L, Vonck K, Tahry R, Wyckhuys T, Herdt H, Carrette E, Wadman W, Michotte Y, Smolders I, Boon P, Meurs A. 2011. Increased hippocampal noradrenaline is a biomarker for efficacy of vagus nerve stimulation in a limbic seizure model. J of neurochemistry; 117: 461-469.
81. Racine RJ. 1972. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. Electroencephalogr Clin Neurophysiol; 32:281-294.
82. Rijkers K, Aalbers M, 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 res; 1319: 155-163.
83. Rosenkranz JA, Grace AA. 2002. Cellular mechanisms of infralimbic and prelimbic prefrontal cortical inhibition and dopaminergic modulation of basolateral amygdala neurons in vivo. J Neurosci; 22:324-337.
84. Ruffoli R, Giorgi FS, Pizzanelli C, Murri L, Paparelli A, Formai F. 2011. The chemical neuroanatomy of the vagus nerve stimulation. J Chem Neuroanat; 42:288-296.

85. Rush AJ, George MS, Sackeim HA, Marangell LB, Husain MM, Giller C, Nahas Z, Haines S, Simpson RK Jr, Goodman R. 2000. Vagus nerve stimulation (VNS) for treatment-resistant depressions: a multicenter study. Biol Psychiatry; 47:276-286.
86. Rutecki P. 1990. Anatomical, Physiological, and Theoretical Basis for the Antiepileptic Effect of Vagus Nerve Stimulation. J Chem Neuroanat; 31:1-6.
87. Saper CB. 1982. Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. Journal of Comparative Neurology; 2:163-173.
88. Seidel WT, Corcoran ME. 1986. Relations between amygdaloid and anterior neocortical kindling. Brain Res; 385:375-8.
89. Shin LM, Liberzon I. 2010. The Neurocircuitry of Fear, Stress, and Anxiety Disorders. Neuropsychopharmacology; 35:169-191.
90. Sotres-Bayon F, Quirk G. (2010) Prefrontal control of fear: more than just extinction. Current opinion in neurobiology; 20:231-235
91. Sullivan RM, Gratton Alain. 2002. Behavioral effects of excitotoxic lesion of ventral medial prefrontal cortex in the rat hemisphere-dependent. Brain Research; 927:69-79.
92. Vertes RP. 2004. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. Synapse; 51:32-58.
93. Takaya M, Terry WJ, Naritoku DK. 1996. Vagus nerve stimulation induces a sustained anticonvulsant effect. Epilepsia; 37:1111-1116.
94. Treiman, L.J., Marsh, S., Sabesan, S., Ferguson, R., Treiman, D.M., 2009. VNS-induced reduction of seizures and changes in gene expression in a rat model of chronic epilepsy. Epilepsia; 50- 388.
95. Walker BR, Easton A, Gale K. 1999. Regulation of Limbic Motor Seizures by GABA and Glutamate Transmission in Nucleus Tractus Solitarius. Epilepsia; 40: 1051-1057.
96. Wang H, Chen X, Lin Z, Shao Z, Sun B, Shen H, Liu L. 2009. Long-term effect of vagus nerve stimulation on interictal epileptiform discharges in refractory epilepsy. J Neurol Sci; 284:96-102.
97. Wenderoth N, Debaere F, Sunaert S, Swinnen SP. 2005. The role of anterior cingulate cortex and precuneus in the coordination of motor behaviour. Eur J Neurosci; 22:235-246.
98. Willner P, Scheel-Krüger J, Belzung C. 2013. The neurobiology of depression and antidepressant action. Neurosci Biobehav Rev; 37: 2331-2371.
99. Wintink AJ, Young NA, Davis AC, Kalynchuk LE. 2003. Kindling induced emotional behavior in male and female rats. Behav Neurosci; 117:632-640.
100. Woodbury DM, Woodbury JW. 1990. Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats. Epilepsia; 31 (Suppl 2): 7-19.

101. Woodbury JW, Woodbury DM. 1991. Vagal stimulation reduces the severity of maximal electroshock seizures in intact rats: use of a cuff electrode for stimulating and recording. Pacing Clin Electrophysiol; 14:94-107.
102. Zabara J. 1992. Inhibition of experimental seizures in canines by repetitive vagal stimulation. Epilepsia; 33:1005-12.
103. Zagon A, Kemeny AA. 2000. Slow hyperpolarization in cortical neurons: a possible mechanism behind vagus nerve stimulation therapy for refractory epilepsy? Epilepsia; 41:1382-9.
104. Zanchetti A, Wang SC, Moruzzi G. 1952. The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. Electroencephalogr Clin Neurophysiol; 4:357-61.
105. Zhang J, Zhang J. 2002. The influence of vagus nerve stimulation on NMDAR1 mRNA and GABAAR alpha 1 mRNA in thalamic reticular nucleus of pentylentetrazole-induced epileptic rats. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi; 19: 566-568.