



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE PSICOLOGÍA

**COMORBILIDAD EPILEPSIA-ANSIEDAD EN UN
MODELO EXPERIMENTAL: ACTIVIDAD
ENCEFALOGRÁFICA Y CONDUCTUAL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A :
ANA ELIZABETH HIDALGO BALBUENA**

JURADO DE EXAMEN:

TUTOR: DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ

COMITÉ: DR. JOSÉ GABRIEL SÁNCHEZ RUIZ

DRA. LILIA MESTAS HERNÁNDEZ

DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL

MTRA. EMMA PATRICIA PÉREZ HERNÁNDEZ



MÉXICO, CDMX.

AGOSTO, 2016



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.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

Este trabajo fue desarrollado 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 con el número de proyecto NC123240.1.

Se agradece la asistencia técnica de los señores Alfredo Martínez Rojas y Alejandro Rubio Luviano.



**INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA
RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ**

El poder de la invención consiste en la capacidad de dominar las posibilidades de un tema y en el poder de moldear y adaptar las ideas con él relacionadas...

*Mary W. Shelley
Frankenstein*

La investigación experimental... debe sentar bases sólidas para una verdadera ciencia de la psicología en el futuro.

Ivan Pavlov

DEDICATORIAS

A mi padre

Gracias por ser mi fuente de inspiración, desde niña te he visto como un ejemplo de inteligencia y tenacidad. Este trabajo es el fruto del apoyo, confianza y amor que me has dado, a pesar de no ser muy afectiva quiero que sepas el amor tan inmenso que te tengo y el agradecimiento que siento porque sin ti mis logros no serías posible.

A mi madre

Eres la mujer que más admiro y amo, no sólo he tenido el enorme privilegio de que seas mi madre sino también de ser mi compañera, amiga, hermana. Gracias por siempre impulsarme a ser mejor, a luchar por mis metas, gracias por hacer de cada sueño un logro. Eres un ejemplo de vida para mí, recuerda que todo lo que soy es por ti. Y este trabajo es el fruto de tu apoyo incondicional.

A Gustavo

Gracias por apoyarme y cuidarme desde que éramos niños. El ser tu hermana mayor me ha permitido tener la fuerza para ser mejor día a día y a pesar de ello me has enseñado tantas cosas, eres una persona muy inteligente que ve lo que para los demás pasa desapercibido. Te amo hermano.

A mi abuelo Luis.

Aunque ya no te encuentres con nosotros, quiero expresarte todo el amor que te tengo, por estar conmigo y no sólo ser mi abuelo sino también ser mi padre. Sé que donde estés, te sentirás muy orgulloso de mis logros.

Diana.

Ratita, gracias por ser mi mejor amiga. Apoyarme y aguantarme cuatro años de carrera, podría contar tantas anécdotas, caídas, lloriqueos, risas. Pero solo puedo decir que este trabajo es también tuyo.

Anna, Magaly, Tepale y Bryan

Son las mejores personas que pude encontrar en la FES, gracias por esas tardes de risas en los coloritos, lloriqueos, preocupaciones, escuchar mi experimento e historias una y otra vez. Los quiero.

Dr. Alejandro Valdés

"elefante en una casa de cristal". No sabe en dónde se guardan las cosas, se tropieza con todo, se le escapan las ratas de sus jaulas, se tarda cuatro horas en hacer algo que debería tomarle 30 minutos, se desespera fácilmente, y cuando llega al momento de realizar el experimento ya es hora de ir a la siguiente clase y deja todo en manos de los demás. Pero esa misma tarde o al día siguiente regresa con bríos renovados y poco a poco va ganando su sitio y adquiriendo destreza, hasta que un día se hace su primera pregunta personal. Éste es el día que debe celebrarse como el de su nacimiento a la comunidad científica.

Jefe, desde el día que la leí supe que la quería plasmar en mi tesis, agradeciéndote las enseñanzas que me has brindado y la oportunidad de entrar al laboratorio.

Dr. Víctor Magdaleno, Dr. David Martínez,

Doctores, gracias por la ayuda y enseñanzas que me han brindado estos dos años, han sido maestros y amigos muy importantes en mi formación.

Ing. Salvador Almazán y al Ing. Rodrigo Fernández

No podía dejar de mencionarlos y agradecerles, ya que han sido grandes maestros en áreas que eran completamente desconocidas para mí.

Ale Garay, Pablo, Angie, Mario, Diego, Benjamín, Andi, Gerardo, Dieter, Adrián, Ale Díaz, Luis, Abraham, Chucho, Donna, Elizabeth, Sara y Omar.

A cada uno le agradezco: enseñanzas, pláticas, consejos, ideas, experimentos (con galletitas), clases, seminarios, congresos, compañía en fines de semana, navidad y año nuevo. Se volvieron parte de una nueva familia, que es el laboratorio. Me encantó compartir este tiempo de mi vida y aprendizaje.

Gracias profesores de FES Zaragoza que guiaron mi camino como estudiante, ser humano e investigadora: *José Gabriel Sánchez Ruíz, Luz María Cruz Martínez y Alma Lidia Martínez Olvera.*

Gracias a mi Padre Celestial, por todas las bendiciones que ha derramado sobre mí.

“buscad palabras de sabiduría de los mejores libros; buscad conocimiento, tanto por el estudio como por la fe” Doctrina y Convenios 109:7

Abreviaturas

| | |
|-----------------|---|
| AM | Amígdala |
| ANOVA | Análisis de Varianza |
| ATV | Área Tegmental Ventral |
| BA | Amígdala basal |
| BLA | Amígdala Basolateral |
| BM | Amígdala basomedial |
| BNST | Núcleo de la cama de la estría terminal |
| CA | Campo abierto |
| CA3 | Cuerno de Ammon 3 del Hipocampo |
| CCGTC | Crisis Convulsivas Generalizadas Tónico Clónicas |
| CeA | Amígdala Central |
| CeL | Amígdala Central Lateral |
| CeM | Amígdala Central Medial |
| Cl ⁻ | Cloro |
| CORT | Corticoesterona |
| CRH | Hormona liberadora de corticotropina |
| EEG | Electroencefalograma |
| ELT | Epilepsia del Lóbulo Temporal |

| | |
|----------------|---------------------------------------|
| FPC | Corteza prefrontal |
| GABA | Ácido γ -aminobutírico |
| GD | Giro Dentado |
| HPA | Eje Hipófisis-Pituitaria-Adrenal |
| HPC | Hipocampo |
| IRM | Imágenes por Resonancia Magnética |
| K ⁺ | Potasio |
| KEA | Kindling Eléctrico Amigdalino |
| L/O | Prueba de Luz/Oscuridad |
| LA | Amígdala Lateral |
| LEC | Laberinto Elevado en Cruz |
| NPV | Núcleo Paraventricular del Hipotálamo |
| PAI | Pruebas de ansiedad incondicionada |
| PD | Post descargas |
| PFCm | Corteza prefrontal medial |
| SNC | Sistema nervioso central |

INDICE

| | |
|--|-----------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| 1. EPILEPSIA | 5 |
| 1.1 Definición de epilepsia | 6 |
| 1.2 Crisis Epilépticas | 6 |
| 1.3 Síndrome epiléptico | 8 |
| 1.4 Epilepsia del lóbulo temporal | 9 |
| 1.5 Epileptogénesis | 10 |
| 1.6 EEG y epilepsia | 11 |
| 1.6 Modelos experimentales | 13 |
| 1.7 <i>Kindling</i> eléctrico | 17 |
| 1.7.1 <i>Kindling</i> Eléctrico Amigdalino | 17 |
| 2. ANSIEDAD | 22 |
| 2.1 Definición de Ansiedad | 23 |
| 2.2 Neurobiología de la ansiedad | 24 |
| 2.3 Amígdala y Ansiedad | 24 |
| 2.3 Modelos animales | 29 |
| 2.3.1 Campo Abierto. | 34 |
| 2.3.2 Laberinto Elevado en Cruz | 35 |
| 2.3.3 Caja luz-oscuridad. | 36 |
| 3. COMORBILIDAD EPILEPSIA-ANSIEDAD | 38 |
| 3.1 Definición de comorbilidad | 39 |
| 3.2 Epilepsia-ansiedad | 40 |
| 3.3 Modelos animales | 43 |
| 4. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 46 |
| 5. OBJETIVOS E HIPÓTESIS | 48 |

| | |
|---|-----------|
| 5.1 Objetivo general | 49 |
| 5.2 Objetivos específicos | 49 |
| 5.3 Hipótesis | 49 |
| 6. MATERIAL Y MÉTODO | 50 |
| 6.1 Sujetos | 53 |
| 6.2 Implante del electrodo | 53 |
| 6.3 Kindling Eléctrico Amigdalino (KEA) Y Registro electroencefalográfico (EEG) | 54 |
| 6.4 PRUEBAS DE ANSIEDAD INCONDICIONADA (PAI) | 55 |
| 6.5 PRUEBA DE SUCEPTIBILIDAD A CCGTC | 56 |
| 6.6 GRUPOS Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL | 56 |
| 6.7 Análisis Histológico | 57 |
| 6.8 Análisis estadístico | 58 |
| 7. RESULTADOS | 61 |
| 7.1 Verificación histológica | 62 |
| 7.2 Kindling Eléctrico Amigdalino | 63 |
| 7.3 Prueba de susceptibilidad a CCGTC | 65 |
| 7.4 Pruebas de Ansiedad Incondicionada | 66 |
| 8. DISCUSIÓN | 72 |
| 9. CONCLUSIÓN | 77 |
| REFERENCIAS | 79 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Clasificación de la epilepsia _____ | 8 |
| Figura 2. Conexión de neuronas piramidales _____ | 13 |
| Figura 3. Vía amígdala-corteza entorrinal-giro dentado _ | 20 |
| Figura 4. Secciones coronales del cerebro de primate _ | 21 |
| Figura 5. Esquema del núcleo amigdalino _____ | 25 |
| Figura 6. Esquema simplificado de la red de ansiedad _ | 27 |
| Figura 7. Eje HPA _____ | 29 |
| Figura 8. Registro electroencefalográfico _____ | 54 |
| Figura 9. Esquema de procedimiento metodológico ____ | 60 |
| Figura 10. Trayectoria unilateral del electrodo _____ | 62 |
| Figura 11A. Gráfica de frecuencias _____ | 63 |
| Figura 11B. Gráfica de duración _____ | 63 |
| Figura 12A. Gráfica de permanencia _____ | 64 |
| Figura 12B. Gráfica del desarrollo de los estadios conductuales _____ | 64 |
| Figura 13. Gráfica de la susceptibilidad a evocar PD ____ | 65 |
| Figura 14. Gráfica de susceptibilidad a evocar CCGTC _ | 65 |
| Figura 15. Gráfica número cruces en CA _____ | 68 |

| | |
|---|-----------|
| Figura 16. Gráfica tiempo de movimiento en CA _____ | 68 |
| Figura 17. Gráfica número de entradas al centro en CA_ | 69 |
| Figura 18. Gráfica permanencia al centro en CA _____ | 69 |
| Figura 19. Gráfica rearings en CA _____ | 70 |
| Figura 20. Gráfica número de cruces a BA en LEC ____ | 70 |
| Figura 21. Correlación latencia al centro en CA y número de días para llegar a CCGTC _____ | 71 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----------|
| Tabla 1. Modelos experimentales de epilepsia _____ | 16 |
| Tabla 2. Estadios conductuales de Racine _____ | 18 |
| Tabla 3. Modelación de síntomas de trastorno de ansiedad en roedores _____ | 31 |
| Tabla 4. Parámetros a evaluar en CA _____ | 34 |
| Tabla 5. Parámetros a evaluar en LEC _____ | 35 |
| Tabla 6. Parámetros a evaluar en L/O _____ | 36 |

RESUMEN

La comorbilidad epilepsia-ansiedad tiene gran prevalencia en la clínica, aunque siguen siendo una interrogante los mecanismos que la subyacen. El objetivo del presente trabajo, fue analizar el efecto de las pruebas de ansiedad incondicionada (PAI) sobre el desarrollo de la epileptogénesis inducida con el kindling eléctrico amigdalino (KEA) y el efecto de éste sobre las conductas tipo ansiosas. Se utilizaron 35 ratas macho Wistar (300-350 g) sometidas a PAI: campo abierto (CA), laberinto elevado en cruz (LEC) y cámara de luz-oscuridad (L/O), aplicadas una vez en este orden con 24 h de intervalo. Para el KEA se implantó un electrodo tripolar en la amígdala del lóbulo temporal izquierdo y electrodos epidurales en ambas cortezas prefrontales, se estimuló cada 24 h (1 s, 1 ms, 60 Hz, 250-500 μ A) hasta presentar tres crisis convulsivas generalizadas tónico clónicas (CCGTC) consecutivas. Se formaron 5 grupos con una N=7: 1) control PAI; 2) PAI+KEA, que se les aplicó las PAI, 24 h después se implantaron y se inició el KEA; 3) KEA+PAI, sometidas al KEA y 24 h después de la 3^a CCGTC se les aplicó las PAI; 4) SHAM+PAI, se implantaron sin inducir KEA y se les aplicó las PAI; 5) control KEA, sólo recibieron kindling. Del KEA se analizó el número de estimulaciones para la primer CCGTC, el desarrollo de epileptogénesis y la prueba de susceptibilidad a CCGTC. De las PAI, se analizaron las conductas tipo ansiosas. Se observó en los animales PAI+KEA un aumento del umbral requerido para evocar espigas comparado con el de los animales control KEA. Además se observó una correlación positiva de la latencia al centro de la prueba de CA con el número de días para presentar la primer CCGTC. Los resultados sugieren que la exposición a eventos que generan ansiedad moderada no acelera la epileptogénesis, ni aumenta la severidad de las crisis convulsivas. Sin embargo, incrementa la predisposición a generar actividad ictal. Mientras que las crisis convulsivas afectan, aunque de manera moderada, la expresión de conductas ansiosas.

INTRODUCCIÓN

La epilepsia tiene un lugar peculiar en la historia, incluso antes de considerarse enfermedad. Esta peculiaridad se debe a sus múltiples manifestaciones conductuales y psicológicas. Las primeras explicaciones de la epilepsia fueron mágico-religiosas, que en algunos lugares sigue estando presentes, debido a que el conocimiento no ha permeado en todas partes.

Los primeros indicios de la presencia de crisis epilépticas en los homínidos datan del 700 000 a. de C. en el *Homo antecessor*, donde en sus restos fósiles se observaron trepanaciones que fueron practicadas desde el paleolítico, quizá, para las personas con epilepsia para dar salida a los espíritus malignos que se encontraban encerrados en el cuerpo enfermo. Los cráneos con trepanaciones, podrían pertenecer a personas que padecían enfermedades como migrañas o epilepsia a partir del análisis de la situación y conformación de los trépanos (Calder, 1965 en García-Albea, 1999).

Diversas culturas han querido buscar explicación a la epilepsia. En Grecia surgió el concepto de epiléptico, cuya raíz etimológica proviene del verbo griego <<*epilambanein*>> que significa ser atacado (García-Albea, 1999), porque se creía que los enfermos epilépticos eran tomados por la furia de los Dioses debido a sus actos incorrectos. Hipócrates de Cos, considerado padre de la medicina, dignifica al paciente epiléptico y declara que la epilepsia es una enfermedad natural en su tratado “Sobre la enfermedad sagrada” (Brailowsky, 1999).

A partir de esta significación inició la indagación de los múltiples procesos subyacentes a ella, ampliándose el interés en diferentes ramas de la ciencia tanto de las llamadas ciencias duras como de las humanidades. Incluso en el arte, la literatura y la pintura no se han desentendido de la epilepsia.

En compilaciones históricas se ha descrito que la epilepsia puede estar estrechamente relacionada con los estados de ánimo. Galeno observó una repetición constante entre la “histeria” que se caracterizaba por bolos deglutorios, dificultades respiratorias, dolores abdominales y la epilepsia (García-Albea, 1999). Muchos de estas alteraciones en la conducta se deben a una comorbilidad entre la epilepsia del lóbulo temporal y trastornos del estado de ánimo, como ansiedad o depresión.

A pesar de los pasos agigantados que se han dado para poder comprender a la epilepsia, aún no se entiende por completo su etiología. Sin embargo, la investigación ha permitido explicar algunos de sus procesos inherentes.

El presente trabajo plantea la posible relación recíproca entre epilepsia y ansiedad mediante un modelo experimental, el cual permite observar el efecto de las conductas tipo ansiosas sobre la progresión de la epileptogénesis utilizando el electroencefalograma (EEG). Asimismo, analizar el efecto de las crisis convulsivas sobre las conductas tipo ansiosas.

1. EPILEPSIA

1.1 Definición de epilepsia

Existe un registro aproximado de la cantidad de personas que padecen alguna enfermedad neurobiológica. Una de las enfermedades con mayor prevalencia es la epilepsia, aproximadamente 50 millones de personas la padecen a nivel mundial (Organización Mundial de la Salud, 2015).

La epilepsia es una enfermedad cerebral, caracterizada por una predisposición perdurable a generar crisis epilépticas, tiene consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales (Fisher, 2015). Por muchos años la epilepsia fue descrita como un desorden cerebral. Sin embargo, con el fin de hacer énfasis en la gravedad e importancia del tratamiento de los pacientes epilépticos, a partir del 2014 se conceptualizó como una enfermedad cerebral.

Aspectos como la edad cronológica, zona de afección y características de la crisis definen cada tipo de epilepsia, o síndrome epiléptico.

1.2 Crisis Epilépticas

Las crisis epilépticas son la ocurrencia transitoria de signos y síntomas debido a una hiperexcitabilidad y sincronización neuronal en el cerebro (Fisher et al., 2005).

La hiperexcitabilidad que ocurre se debe a un desequilibrio de los neurotransmisores y neuromoduladores. Algunos de los principales neurotransmisores implicados en la epilepsia, son el

glutamato y el ácido γ -aminobutírico (GABA). El glutamato es el principal excitador en el cerebro, niveles excesivos por periodos prolongados de tiempo pueden ser tóxicos para las neuronas. El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC), y su ausencia o decremento puede ser detonante de las crisis epilépticas.

Por la heterogeneidad que presentan las crisis epilépticas, han sido clasificadas de diferentes maneras a través del tiempo. Las últimas clasificaciones dan gran importancia a la etiología de la crisis. En el 2011 se dividieron en tres: genéticas, estructural-metabólica y desconocidas (Berg & Scheffer, 2011). A su vez, por la diversidad de características que se reportan se clasifican en crisis focales, generalizadas y de origen desconocido. Las crisis focales, son debidas a una sobreexcitación neuronal delimitada en un área específica de uno de los hemisferios cerebrales y las crisis generalizadas, presentan la sobreexcitación, pero en ambos hemisferios y con diferentes puntos de localización. Las de origen desconocido, como su nombre lo indica no tienen definido su sitio de inicio. En la figura 1 se esquematizan los tipos de crisis.

ILAE Esquema básico de clasificación de crisis 2016

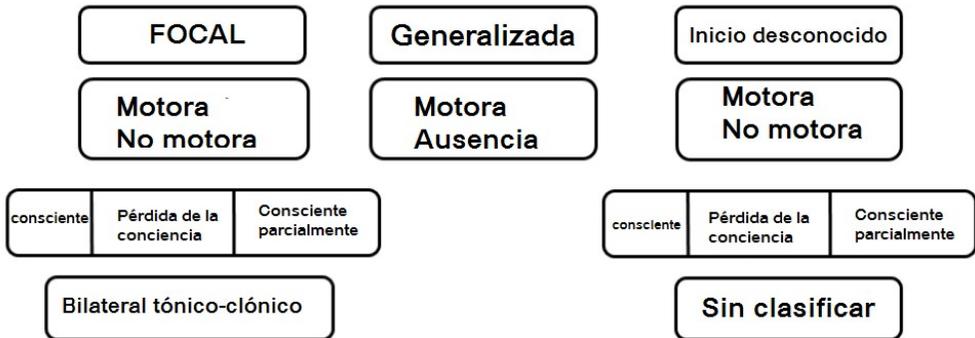


Figura 1. Clasificación operacional de los tipos de crisis: Esquema básico (Modificado de: **ILAE**, 2016)

Las clasificaciones de las crisis son indispensables para poder crear un diagnóstico correcto del tipo de síndrome epiléptico que se padece, y a su vez estas especificaciones ayuda a los investigadores a generar modelos similares a la semiología del padecimiento.

1.3 Síndrome epiléptico

Es un grupo de signos y síntomas que definen una condición epiléptica (Engel, 2006). Incluye los tipos de crisis, la etiología, anatomía y características de los sujetos como, edad, ciclos circadianos, tiempo de pronóstico y severidad.

Una crisis epiléptica se compone de las conductas manifestadas debido a la sincronización anormal del cerebro, y un síndrome corresponde al tipo de crisis que manifiesta el individuo y sus

características simultáneas y por último la epilepsia es la enfermedad.

La diversidad de las características que conforma cada síndrome es muy amplia, pero hay uno que ha llamado el interés en diversas esferas del conocimiento, por su recurrencia y por los diversos comportamientos que están asociados a ella: la epilepsia del lóbulo temporal, que se presenta en aproximadamente el 40% de los casos de epilepsia (Feria-Romero, Alonso-Vanegas, Rocha-Arrieta, & Villeda-Hernández, 2013).

1.4 Epilepsia del lóbulo temporal

Es un síndrome, que pertenece a las epilepsias sintomáticas, presenta su foco epileptógeno en el área límbica (núcleo amígdalino, hipocampo, corteza entorrinal, corteza piriforme) donde se origina la sincronización neuronal. El tipo de crisis en el que se ha clasificado es en la focal con alteraciones de la conciencia (Fisher, Robert, Cross, Helen, French, Higurashi et al., 2016). Su peculiaridad es por las múltiples manifestaciones conductuales asociadas a las crisis, que pueden tener componentes emocionales a causa de las funciones que desempeña el sistema límbico, por esto se le ha asociado a la comorbilidad con trastornos del estado de ánimo. La farmacorresistencia que han presentado pacientes en clínica, es lo que ha hecho a este síndrome uno de los más estudiados y que ha generado mayor interés en saber qué lo origina este síndrome.

1.5 Epileptogénesis

Si bien, el diagnóstico de la epilepsia es a partir de un hecho abrupto como la crisis convulsiva, ésta sólo es el reflejo de una serie de procesos que iniciaron previamente por lo tanto cabe preguntar: ¿Qué pasa en el cerebro antes de la crisis? ¿Cómo se generó esa actividad? y ¿Qué es lo que la desencadena?

Diversos estudios muestran que un incremento en la severidad y frecuencia de las crisis en el transcurso de la enfermedad, puede provocar que se vuelva una epilepsia refractaria al tratamiento farmacológico. Los mecanismos que subyacen a este proceso se dan antes de la instalación de la enfermedad, durante la epileptogénesis.

La epileptogénesis es un proceso mediante el cual se producen alteraciones que llevan al cerebro hacia la generación de actividad eléctrica anormal y la predisposición a crisis epilépticas perdurables (Goldberg & Coulter, 2013). Este proceso es dinámico y progresivo, capaz de generar crisis recurrentes y espontáneas. Requiere un mecanismo biológico de progresión antes y después de que se establezca la enfermedad (Pitka, Lukasiuk, Dudek, & Staley, 2015).

El proceso de la epileptogénesis ocurre en tres fases: primero, la aparición de una lesión precipitante o evento; en segundo lugar, un período "latente" durante el cual cambios en la puesta en marcha por el acto lesión anterior para transformar el cerebro previamente normal en un cerebro epiléptico; y tercero, cambios similares que pueden causar la progresión de la gravedad de la

epilepsia, incluso después de la epilepsia se ha iniciado (Löscher, W., Lawrence, H. & Schmidt, D. 2015)

En la primera etapa, una lesión provoca cambios que resultan en descargas epileptiformes espontáneas de las células principales que son presumiblemente subclínica en la mayoría de los casos. En la segunda etapa "maduración epiléptica", las descargas subclínicas aumentan gradualmente en duración e invaden y reclutan otras poblaciones neuronales que actúan inicialmente como barreras a la extensión de crisis, en última instancia, causando la epilepsia clínica, que incluye convulsiones focales sutiles.

Sobre la base de este concepto, la mayoría de las lesiones cerebrales epileptógenas están asociados con un período de latencia de longitud variable a la primera convulsión clínica, y la duración del período de latencia depende de la gravedad de la lesión inicial (Löscher, W., Lawrence, H. & Dieter Schmidt, 2015).

1.6 EEG y epilepsia

Con el desarrollo de la encefalografía por Hans Berger en 1929 (Gómez, P. et al., 2006), se pudieron observar manifestaciones eléctricas interictales, puntas epileptógenas de las crisis focales, producidas por anomalías en los circuitos neuronales.

La modificación en los circuitos cerebrales, es debida a una alteración de su dinámica, a causa de cambios en las

propiedades de las neuronas que pueden ser observados en el EEG con actividad interictal e ictal.

Hay cuatro componentes fundamentales que se ven implicados en la disrupción de los circuitos (Bertram, 2013).

1. El foco de las crisis donde se genera la sobreexcitación neuronal.
2. Inicio del circuito, son las regiones interconectadas es el soporte necesario para la propagación de las crisis.
3. Las vías de propagación y reclutamiento, son las rutas que siguen las crisis más allá del circuito de iniciación.
4. Los centros de modulación también conocidos como los neuromoduladores, son las proyecciones que el foco epileptógeno tiene.

Los cuatro componentes son claves en el desarrollo de las crisis epilépticas, pero en específico los centros moduladores son responsables de la severidad, frecuencia e intensidad de las crisis.

Una neurona por sí sola no es capaz de generar una crisis epiléptica, pero si es capaz de desencadenar los mecanismos eléctricos para reclutar neuronas adyacentes y generar una sobre excitación neuronal. Por ejemplo, en el área CA3 del hipocampo hay neuronas piramidales compuestas de axones y conexiones, en las cuales se puede observar mediante el EEG paroxismo debido a la extensa red que sincroniza (figura 2).

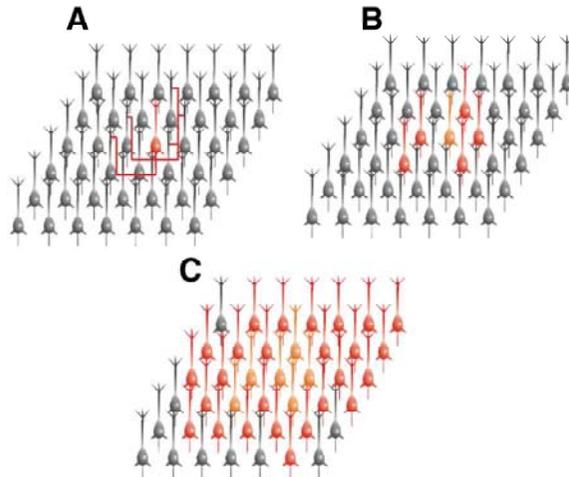


Figura 2. A: Neuronas piramidales del CA3 tienen conexiones divergentes (en este caso) con otras cinco neuronas piramidales. B: Disparo de la neurona CA3 resulta en la activación postsináptica de las cinco células piramidales. C: Cada uno de las cinco, dispara sus objetivos postsinápticos divergentes, lo que resulta en el reclutamiento de una gran población de neuronas piramidales CA3 en coacción sincrónica dentro de un pequeño número de pasos sinápticos (Modificado de: Jefferys & Avoli, 2012)

Para estudiar la epilepsia, es necesario generar conocimientos sobre los mecanismos que la subyacen y encontrar tratamientos más efectivos. Los modelos experimentales son una herramienta indispensable para la comprensión de “la enfermedad sagrada”.

1.6 Modelos experimentales

Las interrogantes en las sintomatologías reportadas en pacientes clínicos con epilepsia han abierto las puertas para la investigación en diversas formas. Las investigaciones con pacientes tienen limitantes como la disponibilidad, la adherencia al protocolo de investigación y la terapia. Diversos estudios

ocupan tejidos *post mortem*, para conocer los cambios ocurridos durante la enfermedad, pero en muchas ocasiones se necesita ir más allá de los datos que pueden ofrecer los pacientes, se necesita manipular diversas variables para poder entender los mecanismos. Los modelos animales juegan un rol importante en entendimiento de la epilepsia. El objetivo de los modelos experimentales es mimetizar las crisis epilépticas, y se pueden clasificar en tres tipos: duración del protocolo para inducir las crisis epilépticas (agudas y crónicas). La causa de la actividad epiléptica (por sustancias químicas, estímulos físicos, alteraciones metabólicas o mutaciones genéticas). El tipo de actividad epiléptica que se genera (focal o generalizada, cortical o límbica, clónica o tónica, estado epiléptico, etc.), (Zavala-Tecuapetla et al., 2011). La tabla 1, muestra la clasificación.

Los modelos animales debe de cumplir con los siguientes criterios (Löscher, 1997):

- a) El tipo de crisis debe ser similar en su fenomenología clínica a las crisis que ocurren en la epilepsia humana. Los tipos de crisis que son resistentes a tratamientos médicos serían los más importantes para estudiar.
- b) Las crisis en el modelo deben ser asociadas con actividad paroxística en el EEG para permitir una evaluación de los efectos de la droga, u otro tratamiento, en ambas manifestaciones, conductual y electrográfica.
- c) Mostrar sensibilidad específica a los fármacos antiepilépticos.

d) El modelo debe permitir estudios de largo plazo de la eficacia de los anticonvulsivos.

Uno de los modelos animales que provee una excelente oportunidad para estudiar los cambios en las redes neuronales de la ELT y su epileptogénesis es el *Kindling* Eléctrico, porque permite el control del origen del foco epileptógeno, la severidad y la temporalidad de las crisis.

Tabla 1
Modelos experimentales de epilepsia.

| Tipo Agente Pro-epiléptico | Agentes Causantes | Tipo de Actividad Epiléptica Generada | Tipo Protocolo (Duración) | Edad de las Ratas |
|----------------------------|---|--|--|-----------------------------------|
| Químico | Ácido kainico | Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas, status epilepticus | Agudo, crónico | Adultas y en desarrollo |
| | Pilocarpina | Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas, status epilepticus | Agudo, crónico | Adultas y en desarrollo |
| | Pentilentetrazol | Crisis clónico-tónicas generalizadas | Aguda. | Adultas y en desarrollo |
| | | Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas | Crónico (kindling químico) | Adultas |
| | | Crisis de ausencia | Agudo | Adultas |
| | Glutamato monosódico | Crisis clónico-tónicas generalizadas | Agudo, crónico. | En desarrollo |
| | Fluoroetil | Crisis clónico-tónicas generalizadas | Agudo. | En desarrollo |
| Toxinas tetánica | Crisis secundariamente generalizadas | Crónico | Adultas y en desarrollo | |
| Físico | Kindling eléctrico | Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas | Crónico | Adultas y en desarrollo |
| | Generación de postdescargas corticales | Crisis parciales complejas o crisis mioclónicas | Agudo | En desarrollo |
| | Electrochoques | Crisis mioclónicas Crisis clónico-tónicas | Agudo | Adultas y en desarrollo |
| | Hipertermia | Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas | Agudo Crónico | En desarrollo |
| | Hipoxia | Crisis clónico-tónicas | Agudo | En desarrollo |
| Genético | Ratas genéticamente propensas a crisis de ausencia GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg) | Crisis de ausencia | Espigas electrográficas tipo espiga onda espontaneas | (jóvenes 1 mes de edad y adultas) |
| | Ratas genéticamente propensas a crisis de ausencia WAG/Rij (Wistar Absences Glaxo rat) | | | |
| | Ratas Genéticamente propensas a la Epilepsia (Genetically Epilepsy-Prone Rats) | Crisis convulsivas primaria o secundariamente generalizadas (clónicas/tónico-clónicas) | Sonido | Adultas |

Tomada de Zavala-Tecuapetla, 2011

1.7 Kindling eléctrico

Este modelo de crisis convulsivas fue descrito por (Goddard et al., 1969). Trabajando en un protocolo de aprendizaje donde estimulaba eléctricamente la amígdala del lóbulo temporal, para ver posibles efectos de interferencia, se dio cuenta que si estimulaba a corrientes de baja intensidad, por corto tiempo (segundos) producía una leve y pasajera inmovilidad en las ratas estimuladas. Llevó a cabo estimulaciones diarias y observó que los animales iban teniendo cambios progresivos en la conducta y terminaban presentando crisis convulsivas generalizadas tónico-clónico (CCGTC). Goddard llamó a este fenómeno *Kindling*.

El *Kindling* eléctrico es un modelo experimental de epileptogénesis, consiste en la estimulación eléctrica repetida (pulsos de 1 ms de duración, a 60 Hz, durante 1s) de regiones cerebrales específicas (principalmente la amígdala y el hipocampo) siendo la amígdala una estructura con menor umbral para desarrollar crisis focales.

1.7.1 Kindling Eléctrico Amigdalino

La amígdala es una de las estructuras con mayor susceptibilidad a generar crisis convulsivas, requiere 14 estimulaciones en ratas en promedio para general una CCGT. La estimulación en esta área se le ha denominado *Kindling* eléctrico amigdalino (KEA) que resulta en un desarrollo e intensificación progresiva de crisis

motoras (Goddard, McIntyre, & Leech, 1969). Los cambios conductuales que se observan durante el desarrollo del *kindling* se describen en la Tabla 2.

Tabla 2.

Estadios de Racine

| ESTADIO | CONDUCTA |
|---------|--|
| I | Movimientos faciales. |
| II | “Nodding” asentamiento con la cabeza. |
| III | Movimiento clónicos de las extremidades anteriores |
| IV | Levantamiento de “Canguro” |
| V | Crisis motora, pérdida completa de postura |

Tomado de Racine, 1972b.

Los cambios conductuales son acompañados por un aumento en la duración, amplitud y frecuencia de espigas en las post-descargas (PD) focales (Racine, 1972b). Además, el umbral para la generación de las PD suele disminuir a lo largo del *kindling*, así como también varios días después de haberse dejado de estimular o incluso meses, cuando se realiza la prueba post-*kindling* (Racine, 1972a), indicando un efecto permanente de sensibilización de las redes neuronales (Gorter, van Vliet, & Lopes da Silva, 2016)

El KEA ha sido aceptado como un modelo de epilepsia, utilizado para la evaluación preclínica de múltiples drogas antiepilépticas; además, su similitud en respuesta a los antiepilépticos, comparado con pacientes con ELT y la facilidad para ver su efecto sobre crisis focales o generalizadas, así como de sus efectos sobre distintos mecanismos y estructuras, hacen de este modelo una valiosa herramienta para el estudio de la epilepsia (Löscher, 1997).

Las ventajas que tiene el KEA para la investigación de la epilepsia son: tener una activación focal precisa, el desarrollo de la epileptogénesis es observable, el patrón de la propagación de las crisis y la generalización son fácilmente observables, los periodos interictales, ictales y postictales son fácilmente manipulables, los cambios son aparentemente permanentes y las crisis se pueden controlar de manera fehaciente (Goddard, 1969; Löscher, 2002; Morimoto, 2004).

Este modelo ha permitido conocer una de las diversas vías que siguen los mecanismos de epilepsia. A pesar, que la zona estimulada es la amígdala, tiene conexiones, por medio de la vía perforante a la corteza entorrinal y proyecciones eferentes al giro dentado (GD) (Figura 3). Esta estructura funciona como un “controlador de acceso” de las entradas excitatorias, mediada por interneuronas. Conforme los días de estimulación del KEA van progresando se ve una disminución en PD, esto indica la disminución de la inhibición por parte del GD (Gorter et al., 2016).

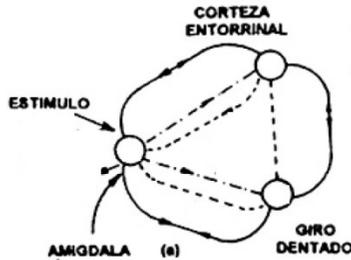


Figura 3. Vía amígdala-corteza entorrinal-giro dentado. Figura modificada: (Zapata, Gaona, Herrera, Castro, & Aguillón, 1999)

Diversos experimentos con KEA se han realizado para describir los mecanismos que subyacen a la ELT. Wada & Sato (1974), describieron los estadios del KEA en gatos y las estructuras que se ven implicadas en la propagación del foco epileptógeno. Las áreas reclutadas en la propagación ipsilateral es la sustancia *nigra*, putamen, globo *palidum*, para la generalización se requiere la participación de estructuras mediales, es especial el cuerpo calloso que tiene diversas conexiones con el lóbulo frontal (Wada et al., 2001), que juega un papel crítico para la generalización bilateral, subsecuentemente se contralateraliza y recluta al putamen, globo *palidum*. A pesar de ser vías descritas con anterioridad, recientes investigaciones con técnicas como el IRM han podido observar las vías antes dichas, de esta manera son consistentes los datos que se han descrito no sólo con técnicas más específicas sino con diversas especies. En la Figura 4 se puede apreciar la propagación del foco epileptógeno en el modelo de KEA en monos a través de los cinco estadios, utilizando una técnica de IRM (Cleeren, Casteels, Goffin, Janssen, & Paesschen, 2015).

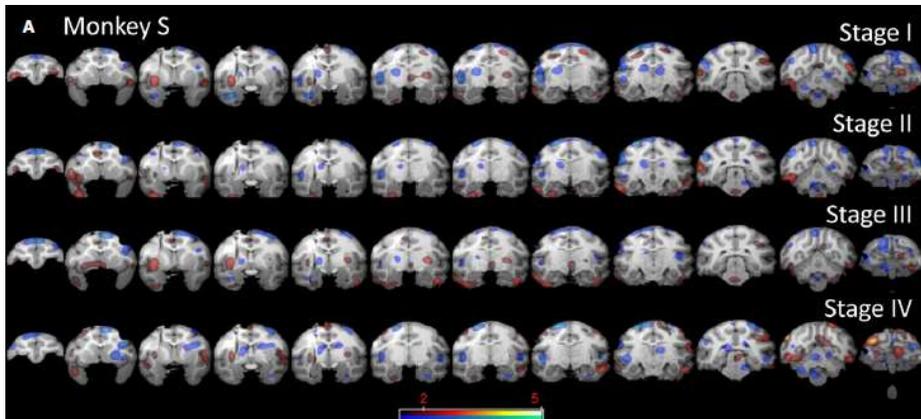


Figura 4. Secciones coronales del cerebro de mono, muestra la evolución de las áreas reclutadas, mediante el proceso de epileptogénesis de la ELT. El color rojo indica el incremento y el azul el decremento de perfusión en la RMI.

La diversidad de estructuras implicadas en la propagación de la actividad epiléptica involucra aquellas que afectan la expresión de las conductas asociadas a la ansiedad.

2. ANSIEDAD

2.1 Definición de Ansiedad

Aproximadamente 615 millones de personas en el mundo, padecen algún trastorno del estado de ánimo, como ansiedad (Organización Mundial de la Salud, 2015).

La ansiedad se caracteriza por una hipervigilancia crónica y persistente. Una hiperactivación prolongada que parece ser resultado de la sobreestimación de amenazas potenciales a situaciones ambiguas (Sylvers, Lilienfeld, & LaPrairie, 2011). La ambigüedad ante ciertas situaciones se presenta cuando el contexto es similar a aquellas en las que existe el peligro, se genera un estado de hipervigilancia y conductas ansiosas (Milad et al., 2009).

Existen diferencias entre miedo y ansiedad. El miedo es una respuesta preservativa de los seres vivos que permite escapar de los estímulos amenazantes mediante la evitación, lucha o inmovilización, según sea conveniente la situación y se presenta por periodos cortos; la ansiedad se presenta en periodos largos, interrumpe la respuesta ante estímulos que se anticipan como una amenaza.

Las amenazas son percibidas de una manera distinta, depende de las construcciones cognitivas, las diferencias individuales de personalidad. También depende de las respuestas biológicas que cada sujeto presente ante un estímulo amenazante.

2.2 Neurobiología de la ansiedad

Cuando un estímulo amenazante es percibido se presenta una respuesta para llevar a cabo una acción.

Cada región del cerebro está especializada en la integración de de funciones, mediante la actividad de circuitos neuronales, que son interconexiones entre diversas regiones, procesando información continuamente y respondiendo a diversos estímulos ambientales. La percepción de situaciones, personas o cosas es responsabilidad de los circuitos que regulan las respuestas emocionales. Un desequilibrio en alguna de las estructuras que participan en este proceso de como resultado un cambio en la conducta, que puede ser adaptativo o no.

Una de las estructuras encargadas de la regulación de la ansiedad es el complejo nuclear amigdalino, que tiene diversas conexiones a regiones del cerebro que regulan neurotransmisores y hormonas.

2.3 Amígdala y Ansiedad

La amígdala o complejo nuclear amigdalino es una estructura que ha sido relacionada la ansiedad. Se han reportado el aumento del volumen de la amígdala en pacientes con desórdenes de ansiedad (Sylvers et al., 2011) además del incremento de la activación de la amígdala en los desórdenes de

ansiedad. No obstante, la amígdala puede jugar un papel en las conductas ansiosas o ansiolíticas.

La amígdala se encuentra alojada en el lóbulo temporal y forma parte del sistema límbico. El núcleo amigdalino está compuesto principalmente por dos complejos; el complejo amigdalino basal (BLA) y el complejo amigdalino central (CeA). A su vez cada uno de ellos está dividido en subnúcleos, En la Figura 5 se esquematizan los principales núcleos amigdalinos.

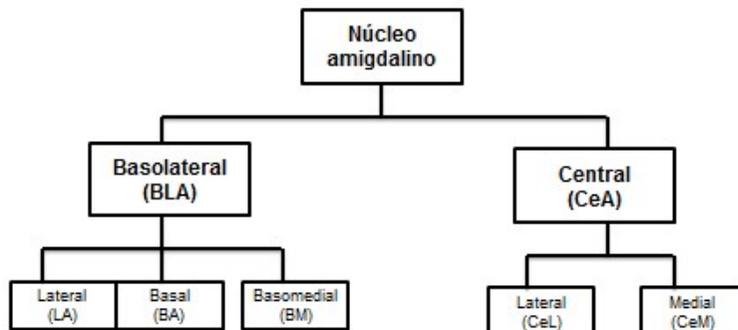


Figura 5. Esquema de los núcleos y subnúcleos principales del Núcleo amigdalino

La BLA tiene aproximadamente un 95% de células glutamatérgicas y lo demás es de interneuronas GABAérgicas, por el contrario la CeA está compuesta de una manera inversa, con un 95% de células GABAérgicas (Tye et al., 2011).

La Amígdala tiene diversos núcleos y subnúcleos que la componen; los efectos que tienen sobre la conducta, son diferenciales a pesar de pertenecer a un mismo núcleo y por

todos los circuitos que conectan diversos subnúcleos y estructuras.

La amígdala, permite la modulación de la atención hacia estímulos biológicamente relevantes o aprendidos, a través de la regulación de sistemas. Una teoría acerca de la forma en que el cerebro prioriza estímulos no atendidos es que un estímulo relevante es detectado por la amígdala, cuyas conexiones con la corteza facilitan la atención y percepción (Phelps & LeDoux, 2005).

La activación completa de la BLA tiene como resultado un incremento en las conductas ansiosas. La CeA juega un rol primordial en la mediación del comportamiento inducido por estímulos amenazantes.

Como principal responsable de la memoria emocional y las respuestas ante estímulos amenazantes del medio ambiente, es de entenderse las diversas conexiones que subyacen a una conducta. La amígdala recibe información del medio externo por dos vías: tálamo, donde es una respuesta rápida pero tosca y la corteza donde se procesa información de mayor complejidad, ambas proyectan fuertemente a la LA, proyectan a la BLA y a la CeM. La región de salida de información es la CeM, tiene proyecciones al tallo cerebral y es la responsable de las conductas ansiosas. Se ha reportado que si la BLA excita a la CeA por sus neuronas glutamatérgicas, se inhibe la CeM y sus proyecciones al tallo cerebral, dando como resultado una conducta ansiolítica (Tye et al., 2011).

Aunque las BLA conformada por neuronas piramidales tienen diversas conexiones y sus blancos incluyen BNST, HPC y PFC.

Cada una de estas conexiones tiene diferentes respuestas en la conducta. El BNST tiene la función de modular la ansiedad, en pacientes se ha observado que la hiperactividad de este núcleo está asociado a los estados de ansiedad generalizada, Además, las conexiones específicas se pueden asociar con diferentes conductas. Las proyecciones van de la amígdala al BNST que a su vez tiene proyecciones glutamatérgicas al ATV participando en la generación de las conductas ansiosas, mientras que las proyecciones son GABAérgicas de este mismo circuito participan en las conductas ansiolíticas.

Proyecciones de la BLA al vHPC, incrementan la ansiedad. Un circuito interesante y que ha generado gran interés es el de la PFCm que proyecta al vHPC, seguido de la BLA y el BNST. En la Figura 6 se describen los circuitos ya explicados.

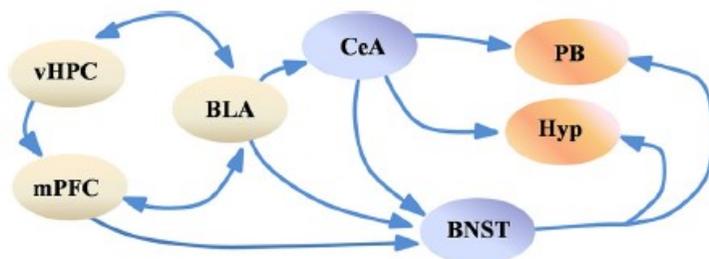


Figura 6. Esquema simplificado de la red de ansiedad. Modificado de (Adhikari, 2014).

Como se aprecia en la Figura 6, la amígdala tiene proyecciones a la FPC, este circuito está involucrado en promover los mecanismos de control *top-down* que inciden en los procesos atencionales (Bishop, 2007). Este mecanismo se refiere los procesos de arriba-abajo (*top-down*), o de control cortical hacia núcleos profundos de abajo-arriba (*bottom-up*), es decir de estructuras subcorticales y hacia la corteza, respectivamente (Kim, Gee, Loucks, Davis y Whalen, 2011). Se ha demostrado que la conectividad funcional de estas dos regiones está inversamente relacionada con la expresión de ansiedad (Kim, Gee, Loucks, Davis, & Whalen, 2011).

La exposición continua a eventos estresantes desencadena patologías como los desórdenes de ansiedad (Rau, Chappell, Butler, Ariwodola, & Weiner, 2015). El estrés reduce específicamente el potasio (K^+) que son los canales dependientes de la regulación del potencial de acción, esto decrementa la inhibición de la LA y la vuelve más excitable, por lo que activa la CeA que tiene proyecciones GABAérgicas y regulan la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) a través del núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) a su vez activa el eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HPA) Figura 7.

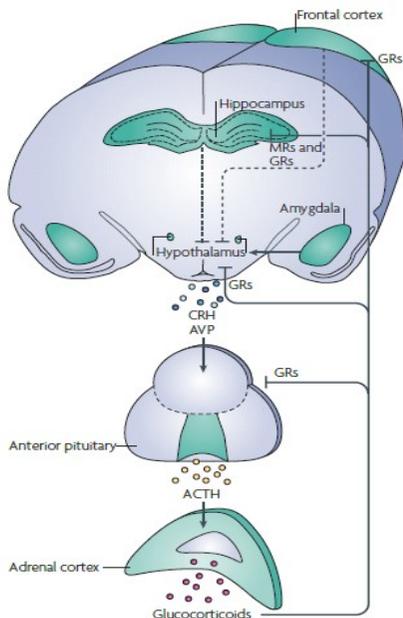


Figura 7. Eje HPA

Se estimula el NPV del Hipotálamo, el cual libera CRH y AVP que se transporta por medio del flujo sanguíneo y llega a su diana que es la glándula pituitaria, segrega la ACTH y produce Glucocorticoides en la corteza adrenal. Viajan por el torrente sanguíneo y los captan los receptores de mineralocorticoides y el receptor de glucocorticoides.

Modificada de (Lupien, McEwen, Gunnar, & Heim, 2009).

2.3 Modelos animales

Los modelos animales que intentan reproducir desórdenes emocionales hacen un símil con las patologías psiquiátricas, como la ansiedad en los humanos, con el fin de poder entender los mecanismos y la etiología de la conducta

Históricamente, la investigación en animales, principalmente en roedores, ha sido fundamental en los esfuerzos para entender los sistemas neurales que regulan emociones, cómo estos sistemas presentan disfunciones en condiciones patológicas y cómo pueden ser moduladas terapéuticamente (Cryan & Holmes, 2005)

Los modelos animales han sido una herramienta esencial para el análisis multicausal de la ansiedad. Es imposible modelar completamente la ansiedad que presenta los humanos en animales. Existen considerables diferencias anatómicas en cerebros de humano y roedor, como la corteza cerebral, por lo que ciertos aspectos de la sintomatología la enfermedad que se expresan en el humano no son modelables en animales. Sin embargo, la corteza cerebral no actúa de forma aislada, sino que está íntimamente interconectada con estructuras subcorticales, bien conservadas en los mamíferos y organizadas estructuralmente de forma común en los cerebros de los vertebrados (Cryan & Holmes, 2005).

Para validar los modelos animales de ansiedad se toma como parámetro, tres tipos de validez: de apariencia, de constructo y predicción (Kumar, Bhat, & Kumar, 2013).

- La validez de apariencia abarca que el despliegue de conductas y signos fisiológicos sea equiparable a las respuestas de los humanos (Tabla 3).
- Validez predictiva: es susceptible a efectos clínicos y efectos farmacológicos, que produzca cambios conductuales que sean revertidos por las mismas modalidades de tratamiento que son efectivas en humanos; y que sea reproducible entre investigadores (Cryan y Holmes, 2005).
- Validez de constructo: similitud en los mecanismos que subyacen a la patología al modelo de comportamiento en el humano.

Tabla 3

Modelación de síntomas de trastornos de ansiedad en roedores.

| Síntoma | Cómo se puede modelar el Síntoma en el roedor |
|--|--|
| Evitación de lugares de donde el escape puede ser difícil (agorafobia) | Alta evitación de áreas expuestas y bien iluminadas |
| Aparición repentina de miedo intenso, frecuentemente con dificultad respiratoria y miedo de «volverse loco» (ataque de pánico) | Conducta de escape de un depredador |
| Ansiedad provocada por situaciones sociales, llevando a una conducta de evitación (fobia social) | Baja interacción social con congéneres desconocidos |
| Ansiedad provocada específicamente por un objeto de miedo, llevando a una conducta de evitación (fobia específica) | Aversión condicionada al sabor |
| Re-experiencia de un evento traumático, llevando a un incremento en la activación y evitación de estímulos asociados con el evento (trastorno de estrés post-traumático) | Aumento en la respuesta de <i>freezing</i> o congelamiento a una señal o contexto condicionados al miedo |
| Obsesiones que provocan ansiedad y compulsiones que reducen la ansiedad (trastorno obsesivo compulsivo) | Aumento en la conducta de enterramiento de canicas y acicalamiento excesivo |

| | |
|--|---|
| Dificultad para concertarse o mente en blanco (trastorno de ansiedad generalizada) | Deficiencias en la atención sostenida |
| Alteraciones del sueño/insomnio | Arquitectura normal del sueño (medida usando EEG) |
| Hiper-activación autonómica (taquicardia, sonrojo, sudoración y micción frecuente) | Medida radiotelemétrica de la dinámica del ritmo cardíaco durante la provocación de la ansiedad, como aumento en la hipertermia inducida por estrés |
| <i>Flashbacks</i> o escenas retrospectivas de eventos traumáticos | Deficiencias en la extinción de la memoria de miedo |
| Sesgo cognitivo hacia señales ambiguas o levemente amenazantes | Aumento del condicionamiento de miedo hacia una señal amenazante parcial |
| Mayor respuesta de sobresalto, particularmente en contextos amenazantes | Mayor respuesta de sobresalto a señales acústicas y mayor respuesta de sobresalto potenciado por miedo |
| Ansiedad por separación | Aumento de las vocalizaciones ultrasónicas en crías separadas de su madre |
| Sentimientos de perder el control o volverse loco durante un ataque de pánico | No pueden ser modelados |

Tomada de Cryan & Holmes, 2005

Las pruebas de ansiedad incondicionada (PAI), presentan situaciones ambientales novedosas que provocan al animal miedo incondicionado y curiosidad, lo que los lleva a un conflicto de aproximación-evitación hacia la fuente potencial de peligro. En este contexto, los estímulos se consideran ansiogénicos o ansiolíticos en función de la exploración que el animal realice en un nuevo ambiente (Cárdenas & Navarro, 2002).

Existen diversas PAI, pero las más utilizadas por su viabilidad, características y uso satisfactorio en el paradigma de modelos animales de ansiedad son: campo abierto (CA), laberinto elevado en cruz (LEC) y caja luz-oscuridad (L/O). Ya que estas pruebas son basadas en la locomoción y la actividad corporal.

2.3.1 Campo Abierto.

Diseñado por Calvin Hall en 1934. La prueba en sus inicios fue diseñada para medir la conducta emocional por medio de la defecación y la actividad exploratoria. En la actualidad se toma en cuenta diversos parámetros para calificar las conductas tipo ansiosas.

Tabla 4

Parámetros a evaluar en CA.

| Medidas Conductas de exploración | | |
|----------------------------------|---|---|
| Conducta | | Significado |
| Locomoción | <ul style="list-style-type: none"> • Número de cruces • Tiempo de movimiento • Número de entradas al centro • Tiempo en el centro | <ul style="list-style-type: none"> • A menor número de cruces o tiempo, mayor es la conducta tipo ansiosa. |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Rearings (se levanta apoyado en sus patas traseras) • Latencia al centro (tiempo que tarda en entrar por primera vez al cuadrante central) | <ul style="list-style-type: none"> • Menor número de rearings, conducta tipo ansiolítica y una descoordinación motora. • Mientras más tarda el animal al entrar al centro, se observa un fenotipo más ansioso |
| Medidas Conductuales de Miedo | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Defecación. • Freezing • Aseo • Micción | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor número de las conductas, mayor es a conducta tipo ansiosa. |

Tomado de Cárdenas & Navarro, 2002

2.3.2 Laberinto Elevado en Cruz

El primer precursor de esta prueba fue Montgomery trabajando con laberintos en “Y”. Handley y Minthani (1987) lo modificaron a forma de “X”, elevado a 70 cm del suelo, que incluía dos brazos abiertos y dos brazos cerrados. Se asume que en brazos abiertos, se produce una combinación de miedo: a) ambiente no familiar, B) a espacio abierto intensamente brillante, C) situación de equilibrio en una superficie relativamente angosta y situada a una considerable altura. Los brazos cerrados: ofrece protección a diferentes depredadores.

Tabla 5

Parámetros a evaluar en LEC

| Parámetros espaciotemporales | |
|---|--|
| Conducta | Significado |
| <ul style="list-style-type: none">• Número de cruces a brazos cerrados (BC)• Número de cruces abiertos (BA)• Número de cruces al centro (BCe)• Tiempo que pasa el animal en brazos cerrados, abiertos y centro | <ul style="list-style-type: none">- Mayor número de entradas y tiempo en BA, denotan conductas ansiolíticas.- Mayor número de entradas y tiempo en BC, denotan conductas tipo ansiosas. |
| Parámetros etológicos | |
| <ul style="list-style-type: none">• Rearings | <ul style="list-style-type: none">- Menor número de rearings, conducta tipo ansiolítica |

Tomado de Cárdenas & Navarro, 2002

2.3.3 Caja luz-oscuridad.

Diseñado por Crawley y Goodwin en 1980. Esta prueba se basa en el principio etológico, la aversión natural que los roedores poseen ante la luz, debido a ser animales nocturnos.

Tabla 6

Parámetros a evaluar en L/O

| Parámetros etológicos | |
|---|--|
| Conducta | Significado |
| <ul style="list-style-type: none">- Transición de la parte oscura al área con luz.- Tiempo que permanece en la luz.- Head-dips (asoma sólo la cabeza de la parte oscura en la prueba)- Rearings. | <ul style="list-style-type: none">- Menor número de cruces o tiempo en la luz, se considera conductas tipo ansiosas.- Frecuencia elevada de head-dips sugiere conductas de miedo en el animal.- Menor número de rearings, conducta tipo ansiolítica. |

Tomado de Cárdenas & Navarro, 2002

Las pruebas que se describieron son usadas en los modelos de ansiedad, los cuales han sido de utilidad para poder explorar la conducta que es producto de los mecanismos biológicos que subyacen a ella.

3. COMORBILIDAD EPILEPSIA-ANSIEDAD

3.1 Definición de comorbilidad

La comorbilidad es la presencia de dos o más condiciones con naturaleza distinta en un mismo individuo (Valderas, Sibbald, & Salisbury, 2009). Existen diversas particularidades a tomar en cuenta en las comorbilidades.

La cronología de las patologías puede ser diversa a partir de dos variables principales. La primera es el lapso, siendo la convergencia de las patologías en un punto específico del tiempo, o periodos donde aparece cada padecimiento en temporalidades distintas. La segunda es la secuencia, refiriéndose al orden en que ocurren los eventos. Ambas variables son de suma importancia en el estudio de asociaciones etiológicas de las comorbilidades.

Por otra parte existen características genéticas, biológicas y ambientales en la etiología de un desorden en particular, aunque también juegan un rol en la comorbilidad. Diversos modelos de asociación etiológicas explican la interacción entre las características.

- El modelo de causalidad directa, un desorden es causado por un factor de riesgo independiente del otro.
- Factores de riesgo asociados, los factores de riesgo de cada desorden se correlacionan.
- Heterogeneidad, cada desorden tiene su factor de riesgo independiente, pero los desórdenes se relacionan entre sí.

- Independencia, La presencia de las características de diagnóstico de cada enfermedad es en realidad debido a la tercera enfermedad distinta.

Todos estos aspectos son básicos en la clínica para dar cuenta de la comorbilidad. En las últimas décadas se ha reportado una muy frecuente entre epilepsia y diversos trastornos psiquiátricos.

3.2 Epilepsia-ansiedad

Uno de los trastornos de mayor prevalencia en pacientes con epilepsia es el de ansiedad con una prevalencia de 22.8%. Con mayor especificidad se ha visto que el estado de ansiedad ha sido asociado con la ELT y que un estado de ansiedad está vinculado significativamente con las altas frecuencias en crisis epilépticas focales y el estado de ansiedad también precede a las crisis epilépticas (Brandt, 2016).

El lapso en el que se presentan los desórdenes es útil para distinguirlos como comorbilidad. Se distinguen tres relaciones entre epilepsia y ansiedad. La ansiedad como un fenómeno ictal, las manifestaciones clínicas de ansiedad se presentan segundos o minutos antes de la crisis epiléptica; la ansiedad como un fenómeno postictal, las manifestaciones de ansiedad se presentan después de las crisis y la ansiedad como un fenómeno interictal, no se presentan manifestaciones clínicas de ansiedad durante las descargas eléctricas anormales, pero si

coexiste en pacientes con ELT (Beyenburg, Mitchell, Schmidt, Elger, & Reuber, 2005)

Se han creado diversas hipótesis respecto a la comorbilidad epilepsia-ansiedad, debido a las estructuras cerebrales involucradas en el padecimiento, pero específicamente la amígdala y sus conexiones pueden tener influencia endócrina, emocional, en aspectos cognitivos y juegan un papel clave en la comorbilidad. Ya que el mecanismo que subyace a los desórdenes de ansiedad es muy similar a la sobre excitación de las neuronas epilépticas.

Las crisis epilépticas con foco en la amígdala pueden producir más ataques de pánico con palpitaciones y aumento de la presión arterial, que muestran un predominio del hemisferio derecho (Sazgar, Carlen, & Wennberg, 2003). Estos síntomas ictal pueden proceder de la activación de la Ce y CeM se proyecta a varias regiones del hipotálamo (activación simpática), así como proyecciones de la Ce a la sustancia gris periacueductal (freezing), núcleo caudal reticular pontina (respuesta de sobresalto), núcleo dorsal del vago (la activación parasimpática), y el núcleo del tracto solitario zona parabraquial (activación de los aferentes gustativas recíprocos de reinstalación y la información viscerosensorial del sistema gastrointestinal, vías respiratorias).

La importancia de la Ce y MeA, se ha observado en pacientes, debido a que la Ce y MeA a menudo se conservan durante la

extracción quirúrgica de la amígdala en pacientes ELT, estas estructuras del circuito de la amígdala que regulan las conductas de miedo y respuestas autonómicas se mantienen intactos después de la cirugía de la epilepsia (Yilmazer-Hanke, O'Loughlin, & Mcdermott, 2016)

Existen datos controversiales sobre el incremento o decremento del volumen de la amígdala de pacientes con ELT. Se ha reportado en pacientes con ELT con episodios de miedo y ansiedad ictal, tienen una considerable disminución en la amígdala en comparación con los pacientes que no presentan estas condiciones. Por el contrario, el aumento de la distimia, depresión y psicosis de la epilepsia parecen correlacionarse con el crecimiento de la amígdala en pacientes con ELT (Kalynchuk, Pinel, Bar, Kippin & Treit, 1995).

Por otro lado se ha propuesto que los cambios moleculares son los responsables de las anomalías, como la potencialización en la inhibición GABAérgica específicamente el decremento de receptores GABA_A y la modulación en los canales de calcio (Adamec, 1990).

Las aproximaciones clínicas con técnicas como la RMI han podido explicar cambios conductuales y biológicos que pacientes con ELT sufren. Sin embargo, esto es cuando la comorbilidad está bien establecida, lo que no permite estudiar la influencia de cada padecimiento entre sí, debido a la gran variedad de manifestaciones del mismo. Por tal motivo se han

utilizado los modelos animales para poder entender la neurobiología y desarrollo de esta comorbilidad.

3.3 Modelos animales

Debido a que los trastornos de ansiedad parecen tener una fuerte comorbilidad principalmente con convulsiones y/o crisis focales instaladas en estructuras límbicas, se han preferido los modelos animales para mimetizar las conductas y cambios neuronales. El uso de estos modelos, ayuda a conocer los cambios de comportamiento cuantificables. Se han buscado más de 24 h después de la última convulsión, con el fin observar las modificaciones posictales.

Aunque los modelos animales con convulsiones espontáneas son de gran utilidad para estudiar los procesos dinámicos que tienen lugar las crisis epilépticas, en otras ocasiones es necesario tener un control preciso de los períodos interictales. Por lo cual, un modelo adecuado para estudiar la comorbilidad epilepsia-ansiedad es el KEA.

Los cambios conductuales después del KEA en gatos son reacciones defensivas (piloerección, postura defensiva, la retracción del oído) observados en algunos de los gatos durante las convulsiones y se siguen mostrando aún con el solo manejo de los animales. Más tarde, y por un período de hasta 4 meses, en crisis con propagación bilateral recurrentes se presentan en aproximadamente la mitad de los animales. Estas convulsiones se caracterizan por la actividad epileptiforme del EEG registrado

principalmente en la amígdala y sin ningún componente del motor. Estos animales demuestran una clara inestabilidad emocional en los períodos entre convulsiones. Esto se evidencia por la aparición de una reacción defensiva rabia explosiva cuando los animales se manejan o incluso se acercaron (Griffith, Engel, & Bandler, 1987).

En ratas, entre los trabajos más representativos se encuentra los de Adamec. Los tres estudios indican claramente que el KEA aplicado hasta el estadio V y con tres series de 5 crisis convulsivas en los núcleos BLA dan como resultado una reducción significativa de la exploración en brazos abiertos en la prueba del laberinto elevado, con efecto ansiogénico del KEA. Asimismo, Se sugiere la reducción de la exploración en la prueba hole-board y en el campo abierto, además de un aumento de la inmovilidad durante las interacciones sociales (Helfer, Deransart, Marescaux, & Depaulis, 1996). En un estudio con un enfoque diferente, con *kindling* del núcleo CeA, se observó un aumento de la susceptibilidad a la patología gástrica como respuesta al estrés (Henke & Sullivan, 1985). En otros estudios del KEA en la rata (referencia), aumentó el miedo a un ambiente nuevo y con duración hasta de un mes llegando a desaparecer. Sin embargo, el miedo reaparece por la presencia de convulsiones adicionales. Estos hallazgos sugieren que los efectos ansiogénicos del KEA no son permanentes y dependen de la aparición de convulsiones (Kalynchuk, Pinel, Barr, Kippin & Treit, 1995).

El núcleo amigdalino es una estructura clave en la comorbilidad epilepsia-ansiedad. Está estrechamente relacionada con las conductas tipo ansiosas y es uno de los focos epileptógenos en la ELT, al igual se ha demostrado su vulnerabilidad en modelos experimentales de epilepsia como el KEA, para generar crisis convulsivas.

Existen diversos mecanismos que se ven implicados, como el cambio en las propiedades intrínsecas de las neuronas. Se ha descrito la inducción de actividad fásica a largo plazo que está asociada con esta comorbilidad (Rau, 2015). Las diversas conexiones que la amígdala posee participan de este proceso. En animales que fueron sometidos a KEA se observó una activación de la BLA y la CeA, las cuales tienen conexiones a la materia gris periacueductal que tiene como consecuencia conductas defensivas y modulación de las conductas ansiosas. Independientemente de los mecanismos involucrados, la hiperexcitabilidad de las neuronas de la amígdala por un tiempo prolongado, probablemente participa en las conductas ansiosas.

También se ha observado cambios en neurotransmisores. Uno de los que tiene gran implicación en la comorbilidad es el GABA. Estudios in vivo e in vitro han demostrado la reducción de la inhibición GABAérgica en pacientes con ELT que presentan desórdenes del estado de ánimo como ansiedad (Adamec, 1990). En animales con *Kindling* se ha observado una reducción de la actividad en los receptores a Benzodiazepinas de estructuras límbicas que participan en conductas ansiógenas.

4. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la alta prevalencia de síntomas de ansiedad post-ictales que se han observado en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, es necesario estudiar la relación y el posible efecto recíproco que existe entre ambos padecimientos, es decir si la presencia de uno afecta la severidad del otro.

En el presente trabajo se usaron los modelos experimentales para indagar en la comorbilidad epilepsia-ansiedad, de manera que fuera posible tener un control de las variables. Se utilizó el modelo de KEA, debido a que ofrece la posibilidad de investigar las consecuencias de las crisis en cada estadio y la relación con las conductas tipo ansiosas, las cuales se pueden medir con las PAI, permitiendo observar las respuestas naturales de los animales ante estímulos que generan ansiedad.

Estudios clínicos y experimentales sobre la comorbilidad epilepsia-ansiedad, no han logrado determinar de manera inequívoca los procesos implicados en la relación recíproca entre las dos patologías, tampoco se han podido describir claramente los mecanismos biológicos inherentes a la comorbilidad. Es por ello que el KEA es un modelo adecuado para estudiar la progresión de la epileptogénesis debido a la exposición de pruebas de ansiedad incondicionada y asimismo se pueden observar los cambios que se presentan en la conducta ansiosa debido a las crisis convulsivas.

5. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

5.1 Objetivo general

- Determinar si existe una relación recíproca entre la epileptogénesis y las conductas tipo ansiosas en un modelo experimental de comorbilidad epilepsia-ansiedad.

5.2 Objetivos específicos

- Evaluar los cambios en el EEG: frecuencia de espigas, duración de la crisis, número de estimulaciones para alcanzar la CCGTC.
- Evaluar la evolución de los estadios conductuales en el proceso de epileptogénesis.
- Analizar la sensibilidad a crisis parciales y CCGTC.
- Evaluar la severidad de las conductas tipo ansiosas.

5.3 Hipótesis

1. La exposición a las pruebas de ansiedad incondicionada provoca una aceleración de la evolución, aumento de la frecuencia de la postdescarga y la severidad del KEA.
2. La exposición a las pruebas de ansiedad incondicionada favorece la aparición de espigas en la prueba de sensibilidad a CCGTC.
3. La exposición a las pruebas de ansiedad incondicionada reducen la corriente eléctrica necesaria para provocar CCGTC.
4. El KEA incrementa las conductas tipos ansiosas, medidas en las pruebas de ansiedad incondicionada.

6. MATERIALY MÉTODO

▪

- Electrodo de acero inoxidable para registro y estimulación.
- Tornillos de acero inoxidable M 2 × 4 mm.
- Electrodo en forma de clavo.
- Conectores Header machos rectos.
- Material quirúrgico.
- Acrílico dental (Nic-Tone).
- Cera de hueso.
- Anestésico disociativo (hidrocloruro de ketamina, Anesket 100mg/1mL)
- Relajante muscular (hidrocloruro de xilacina, Sigma 100mg/1ml)
- Equipo estereotáxico David Kopf modelo 1470.
- Taladro dental FOREDOM modelo 21b con fresa dental.
- Antiséptico: alcohol, agua oxigenada y yodo.
- Diluyente: solución salina
- Espongostan (esponja de gelatina absorbente) Jhonson & Jhonson Medical
- Estimulador Grass S88 (Grass Telefactor).
- Unidad de aislamiento PSIU6
- Amplificadores PK511 (GRASS).
- Sistema de conversión análogo/digital ADQCH4 desarrollada en el laboratorio (Valdés-Cruz, Magdaleno-Madrigal, Martínez-Vargas, Fernández-Mas, & Almazán-Alvarado, 2008).
- Caja para campo abierto (75×68×65 cm).

- Laberinto elevado en cruz (38.5 cm de altura, 30 cm de largo por 5 cm de ancho para los brazos y 15 cm de alto para las paredes de los brazos cerrados).
- Caja luz-oscuridad con dos compartimientos separados por una mampara, en la que existe una abertura por la que el animal puede pasar de una zona a otra (45 × 27 × 27 cm).
- Un cuarto sonoamortiguado de luz regulable.
- Cámara Panasonic HC-V10.
- Criostato MICROM
- Báscula para roedores (OHAUS).
- Equipo de cómputo para el análisis de datos.

6.1 Sujetos

Se utilizaron 35 ratas macho de la cepa Wistar entre 300-350 g, ciclo de luz/obscuridad de 12 horas y temperatura constante de 23° C, alojados en cajas de acrílico en grupos de 5 ratas con comida y agua *ad libitum*. Proporcionadas por el bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”. Todos los procedimientos con lo animales se hicieron con las especificaciones técnicas de la norma Oficial Mexicana de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación NOM-062-ZOO-1999, para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y con la aprobación del comité de ética del INPRFM.

6.2 Implante del electrodo

Todas las ratas se anestesiaron con Ketamina (100 mg/kg) y Xilacina (20 mg/kg); se implantaron electrodos en amígdala del lóbulo temporal izquierdo (AM) con las siguientes coordenadas: AP -2.8, L: 5.0, H: 8.5 de acuerdo al Atlas de (Paxinos y Watson, 2007) Se colocaron electrodos epidurales de acero inoxidable en forma de clavo sobre la corteza prefrontal de manera bilateral (2 mm anterior a bregma) y dos tornillos en el cráneo a nivel parietal (contralaterales a AM) y uno occipital. Todo el conjunto se soldó a un heder macho recto y se fijó al cráneo con acrílico dental. Al término de la cirugía los animales fueron colocados de forma individual en cajas de policarbonato transparentes (50 x 27 x 30 cm) para su recuperación por 7 días.

6.3 Kindling Eléctrico Amigdalino (KEA) Y Registro electroencefalográfico (EEG)

El KEA se llevó a cabo con un tren de pulsos de 1 s de duración, 1 ms de ancho de pulso, con frecuencia de 60 Hz. En el primer día de estimulación se realizó la búsqueda de umbral necesario para producir PD, dando una estimulación a partir de 100 μ A amentando 50 μ A cada 5 minutos hasta producir una breve postdescarga y conducta de guiño ipsilateral en la rata, el límite de estimulación es de 500 μ A. Una vez determinado el umbral se llevó a cabo una estimulación cada 24 h hasta que el animal presentó tres Crisis Convulsivas Generalizadas (CCG) consecutivamente (figura 8). El análisis de la conducta durante las crisis estuvo basado en la escala de Racine (Tabla 3). La actividad EEG se registró 5 min previos al KEA y 5 minutos después de la finalización de la crisis, utilizando amplificadores PK511, el sistema ADQCH4 y adquiriendo en una computadora personal.

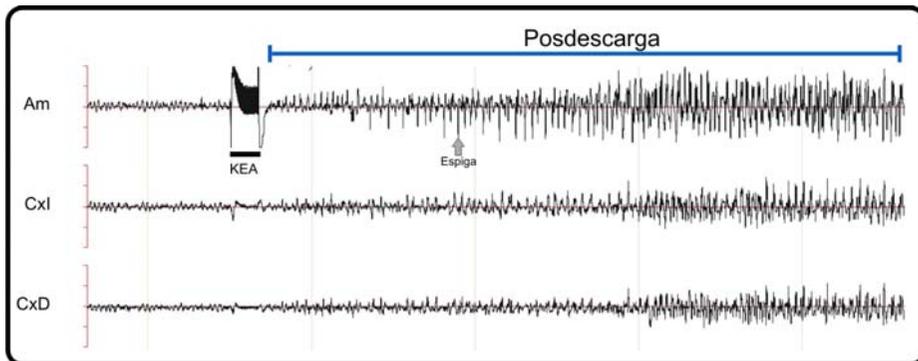


Figura 8. Registro electroencefalográfico de rata posterior a estimulación amigdalina en el estadio V. La flecha negra indica la actividad epileptiforme en el núcleo estimulado Am y la propagación en el hemisferio izquierdo CxI y la contralateralización CxD.

6.4 PRUEBAS DE ANSIEDAD INCONDICIONADA (PAI)

Se realizaron tres pruebas de ansiedad incondicionada en el siguiente orden: Campo Abierto, Laberinto Elevado en Cruz y Caja Luz-Oscuridad. Con un espacio de 24 h entre la aplicación de cada prueba.

- *Campo abierto.* Duración 30 minutos. Fueron habituadas al cuarto sonoamortiguado y en penumbra por cinco minutos. Al término de su habituación las ratas fueron tomadas de su caja y puestas en el centro del campo abierto, en ese momento empezó la prueba. Durante 30 minutos se permitió que el animal explorara de una manera libre. Al término de la prueba se retiró al sujeto y se vuelve a colocar en su caja. Se le dejaron otros 5 minutos en el cuarto sonoamortiguado y se regresaron al cuarto de estancia.
- *Laberinto elevado en Cruz.* Duración 5 minutos. Fueron habituadas al cuarto sonoamortiguado y en penumbra por cinco minutos. Al término de su habituación las ratas fueron tomados de su caja y puestas en el centro del laberinto elevado en cruz durante cinco minutos, permitiendo que el animal hiciera la exploración de manera libre. Al término de la prueba se retiró al sujeto y se colocó en su caja. Se dejaron 5 minutos de recuperación en el cuarto sonoamortiguado y se regresaron al cuarto de estancia.
- *Caja luz-oscuridad.* Duración 5 minutos. Fueron habituadas al cuarto sonoamortiguado y en penumbra por cinco minutos. Al término de su habituación las ratas

fueron tomadas de su caja y puestas con la cabeza mirando hacia el lado donde hay oscuridad, permitiendo que el animal transitara de manera libre. Al término de la prueba se retiró al sujeto y se colocó en su caja. Se le dejó otros 5 minutos de recuperación en el cuarto sonoamortiguado y se regresaron al cuarto de estancia.

6.5 PRUEBA DE SUCEPTIBILIDAD A CCGTC

24 h después de la aplicación de pruebas conductuales se llevó a cabo la prueba de susceptibilidad a CCGTC que consiste en la búsqueda de una modificación del umbral para evocar crisis convulsivas generalizadas. Esta prueba sigue los mismos parámetros que la búsqueda de umbral, pero, hasta llegar a una crisis convulsiva generalizada.

6.6 GRUPOS Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

- PAI: Fueron puestas en cajas individuales y se le aplicaron las pruebas de ansiedad incondicionada sin previa ni posterior manipulación, al finalizar su protocolo fueron eutanizadas.
- PAI+KEA: Fueron puestas en cajas individuales y se le aplicaron las pruebas de ansiedad incondicionada, 24 h después fue implantado el electrodo y se realizó el KEA. Al llegar a su tercer CCGTC consecutiva se esperaron 4 días sin manipulación alguna para realizar la prueba de sensibilidad a CCGTC y al finalizar se eutanizaron.

- KEA+PAI: Se realizó el implante de electrodo, se llevó a cabo el KEA 24 h después de la 3er CCGTC se aplicaron las PAI, un día después se realizó la prueba de sensibilidad a CCGTC y al finalizar se eutanizaron.
 - Sham+PAI: Se realizó el implante de electrodo, se manipuló por 10 minutos sin realizar KEA y 10 días después se les aplicó las PAI al finalizar su protocolo fueron eutanizadas.
 - KEA: Se implantó el electrodo y se realizó el KEA. Al llegar a su tercer CCGTC consecutiva se esperaron 4 días sin manipulación alguna para realizar la prueba de sensibilidad a CCGTC y al finalizar se eutanizaron.
- En la figura 9 se ilustra el procedimiento de cada grupo.

6.7 Análisis Histológico

Al final de la manipulación experimental, a todos los animales se les aplicó una sobredosis de pentobarbital sódico como método de eutanasia. Posteriormente, fueron perfundidos por vía cardiaca con buffer de fosfato y formaldehido al 10%, a través del ventrículo izquierdo. Posteriormente, el cerebro fue removido y sumergido en formaldehido al 10%. Utilizando un criostato, se llevaron a cabo cortes histológicos coronales seriados de 60 μm . Con la finalidad de incrementar el contraste de las estructuras analizadas, se utilizó la técnica de tinción de Nissl.

Para ello, los cortes montados en portaobjetos gelatinados fueron sumergidos en xilol, alcohol a diferentes concentraciones (70%, 95% y 100%) y buffer de Nissl. Por último, los cortes fueron digitalizados para la verificación de los sitios de registro y estimulación.

6.8 Análisis estadístico

Del KEA se analizó la prueba de susceptibilidad a CCGTC, la duración, permanencia y frecuencia de la PD en cada estadio. El número de estimulaciones totales y el número de estimulaciones para alcanzar el primer estadio V, duración y frecuencia de la PD. Para analizar la prueba de susceptibilidad a CCGTC se tomó el porcentaje de corriente necesaria para evocar la primer PD y CCGTC, usando como 100% el umbral inicial.

Se calificaron las siguientes variables en las PAI. Campo abierto: número de cruces, tiempo de movimiento, cruces al centro, tiempo permanecido en el centro, latencia al centro, rearings (levantamiento patas delanteras). Laberinto elevado en cruz: número de cruces y tiempo permanecido en brazos abiertos y cerrados, tiempo que pasa en el centro de la plataforma y rearings. Prueba luz-oscuridad: tiempo que permanece en el área con luz y el número de veces que pasa a ésta, número de veces que asoma la cabeza del lado sombreado al lado con luz. Los resultados de los grupos

experimentales se compararon con el grupo sham y control usando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con una prueba *post hoc* de Bonferroni, la diferencia se consideró significativa con una $p < 0.05$.

Se analizó la correlación con los resultados obtenidos en campo abierto y los días para llegar a la primer CCGTC usando la prueba de Pearson.

Los datos están representados con el promedio \pm error estándar y fueron analizados con el programa estadístico SPSS versión 15.0.

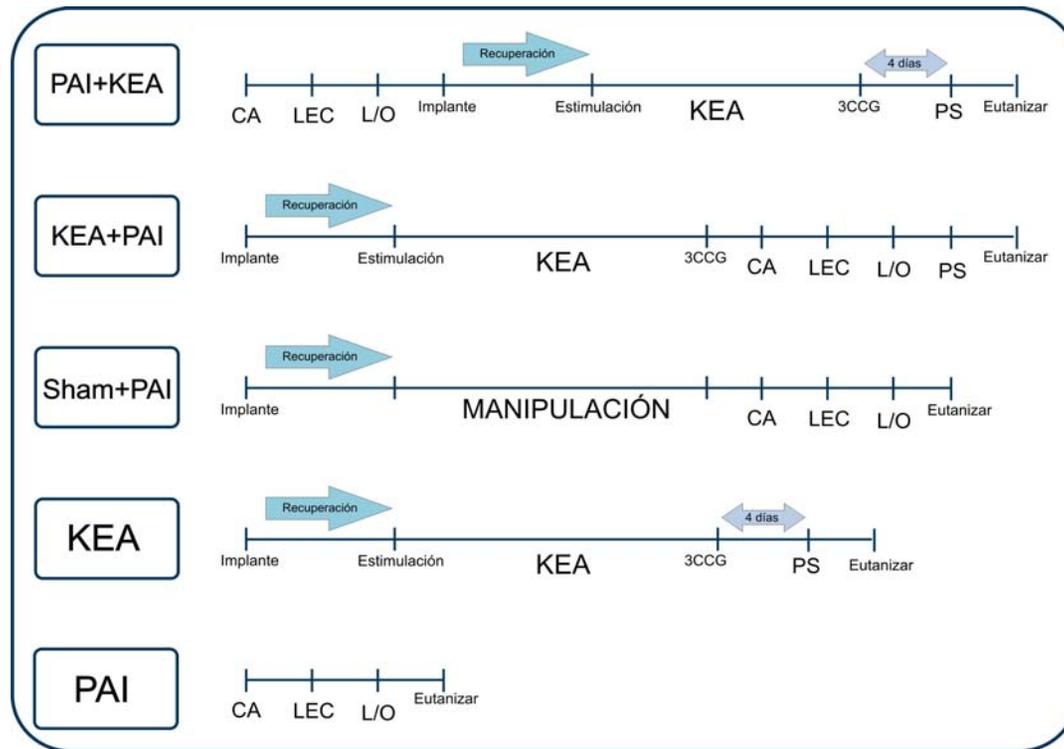


Figura 9. Esquema de sucesión de procedimientos metodológico en cada uno de los grupos utilizados.

7. RESULTADOS

7.1 Verificación histológica

El análisis histológico de los sitios de estimulación y registro EEG mostraron que los electrodos se situaron dentro de la amígdala, como se observa en la trayectoria del electrodo. Todas las ratas que fueron consideradas en el estudio tuvieron el electrodo implantado en el complejo amigdalino (Figura 10) las que no se encontraban en el complejo amigdalino fueron descartadas

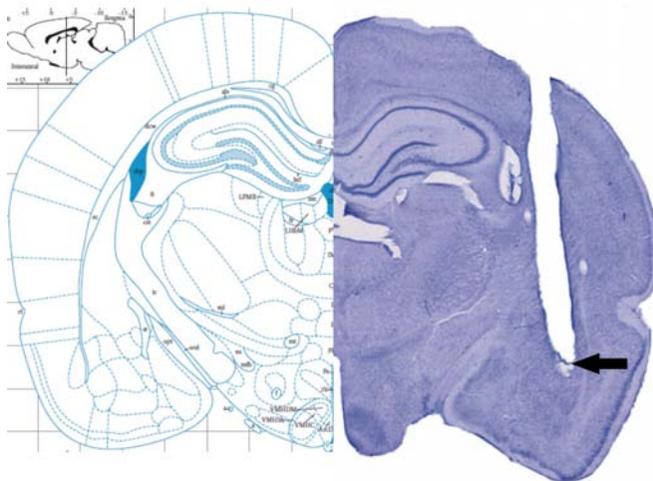


Figura 10. Se observa la trayectoria unilateral del electrodo. La flecha negra indica el núcleo amigdalino al que llegó el electrodo

7.2 Kindling Eléctrico Amigdalino

Se observó que el desarrollo de la frecuencia y duración de la PD fue similar en los grupos KEA y PAI+KEA (figura 11 A y B). Asimismo, la permanencia en los estadios del I al IV no presentó diferencias significativas (figura 11 A). En la cantidad de estímulos para alcanzar el estadio V (figura 11 B) y en la evolución de los estadios a través de los días de estimulación fue similar en ambos grupos (figura 12 C).

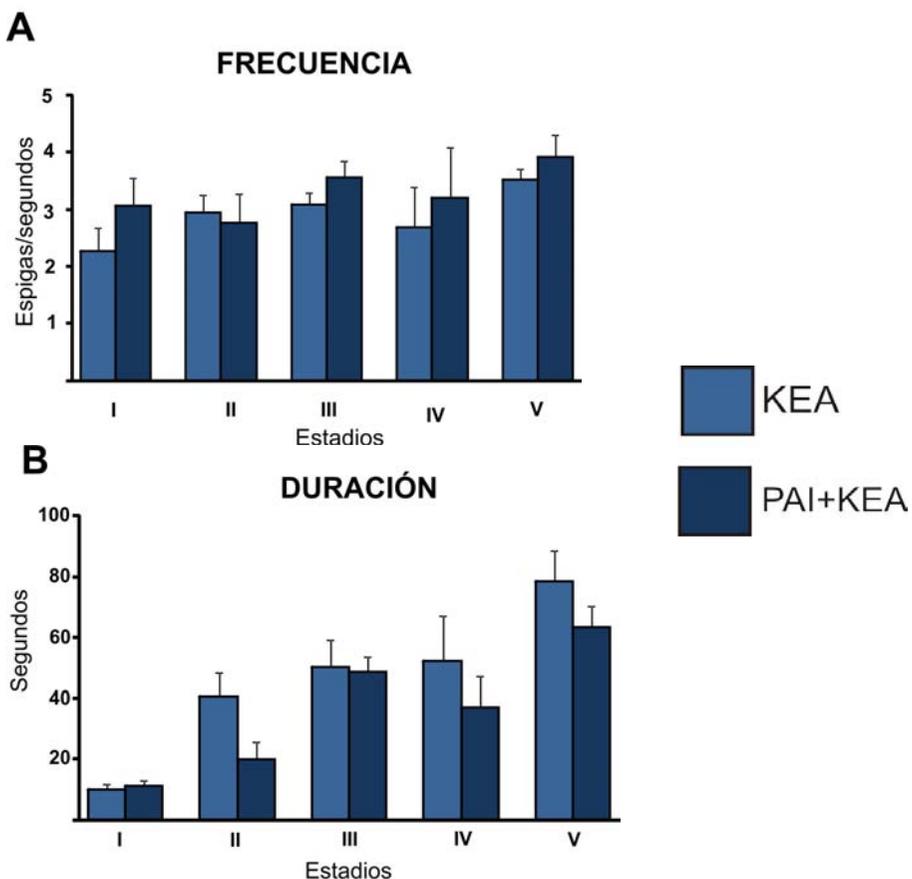


Figura 11. En la figura A se observa el promedio de espigas en cada estadio conductual y en la figura B se muestra el tiempo promedio de la duración de la PD en cada estadio conductual.

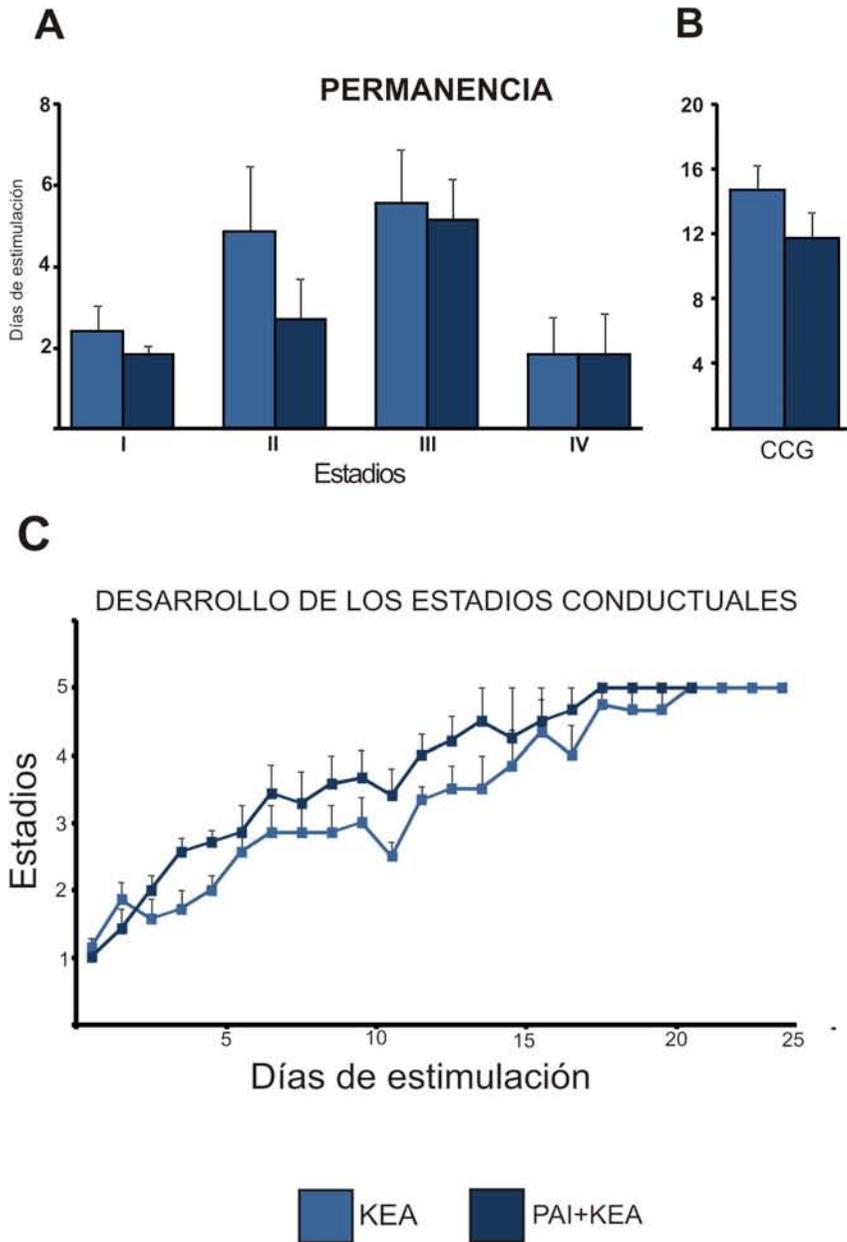


Figura 12. Días que los animales permanecieron en cada estadio conductual (A), días que los animales tardaron en llegar a su primer CCGTC (B), y la evolución de los estadios conductuales a través de los días de estimulación (C).

7.3 Prueba de susceptibilidad a CCGTC

Hubo un cambio significativo en el grupo PAI+KEA comparado con el grupo KEA ($p<0.038$) y el grupo KEA+PAI ($p<0.015$), para evocar la PD. Mientras que para evocar CCGTC no se observó una diferencia significativa.

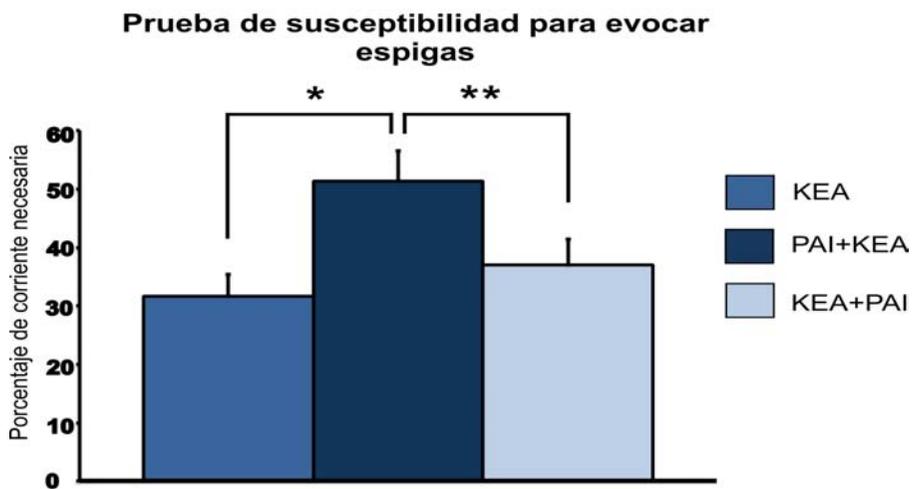


Figura 13. Porcentaje de corriente necesaria (μA) entre grupos para evocar espigas. Nótese que en los grupos que fueron sometidos a las PAI hay una reducción significativa de la corriente para evocar espigas (* $p<0.038$, ** $p<0.015$).

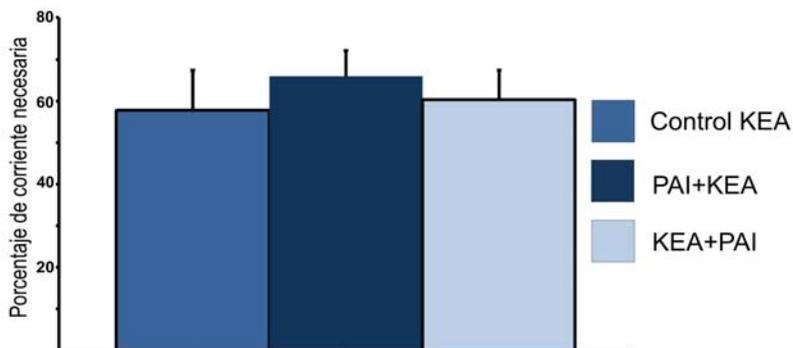


Figura 14. Porcentaje de corriente necesaria (μA) entre grupos para evocar CCGTC.

7.4 Pruebas de Ansiedad Incondicionada

En campo abierto hubo cambios significativos en el número de cruces, tiempo de movimiento, entradas y tiempo en el centro al igual que en los rearings que el animal daba en un lapso de 30 minutos. Se observó, una diferencia significativa en el número de cruces en el lapso de 0-5 minutos ($p < 0.019$) entre los grupos PAI y KEA+PAI y en el lapso de 20-25 minutos entre el grupo PAI+KEA y KEA+PAI ($p < 0.016$) (Figura 15 A). En tiempo de movimiento total se observó una diferencia significativa en el tiempo total entre el grupo PAI+KEA comparado KEA+PAI ($p < 0.014$) (Figura 16 B).

Las entradas al centro mostraron diferencias significativas en el lapso 0-5 minutos entre el grupo PAI y KEA+PAI ($p < 0.026$), y en el lapso de 5-10 entre los grupos PAI comparado con KEA+PAI ($p < 0.003$) y PAI+KEA comparado con KEA+PAI ($p < 0.043$); en 20-25 minutos KEA+PAI comparado con PAI y PAI+KEA ($p < 0.001$) y con SHAM+KEA ($p < 0.011$); y en el lapso de 25-30 min en PAI contra KEA+PAI ($p < 0.018$) (figura 17 A). Además, se observó una diferencia en el acumulado de los 30 min fue mayor el número de entradas a centro del grupo KEA+PAI comparado con PAI ($p < 0.001$) (figura 17 B).

La permanecía en el centro presentó una diferencia significativa en el lapso de 10-15 minutos el grupo KEA+PAI comparado con el grupo Sham+PAI ($p < 0.045$) (figura 18 A). En el acumulado de los 30 min el grupo KEA+PAI mostró una diferencia significativa

comparado con el grupo PAI ($p < 0.001$), PAI+KEA ($p < 0.001$) y con SHAM+PAI ($p < 0.002$) (figura 18 B).

En el número de rearings se observó una diferencia en el lapso de 5-10 minutos el grupo SHAM+PAI comparado con el grupo PAI ($p < 0.016$) y en el grupo PAI+KEA ($p < 0.003$); en el lapso 15-20 min hubo una diferencia en el grupo PAI+KEA comparado con el grupo SHAM+PAI ($p < 0.023$) (figura 19 A). En el acumulado de los 30 min el grupo SHAM+PAI mostró una diferencia significativa contra los grupos PAI ($p < 0.026$) PAI+KEA ($p < 0.008$) (figura 19 B).

En la prueba de Laberinto Elevado en Cruz, se calificó en lapsos de un minuto y el tiempo total de la prueba. Se observó un cambio significativo en los números de cruces a brazos abiertos en el lapso de 0-1 minuto el grupo KEA+PAI comparado con el grupo PAI+KEA ($p < 0.026$) y el grupo SHAM+PAI ($p < 0.027$) (figura 19).

En la prueba de luz-oscuridad no se encontraron datos significativos.

CAMPO ABIERTO

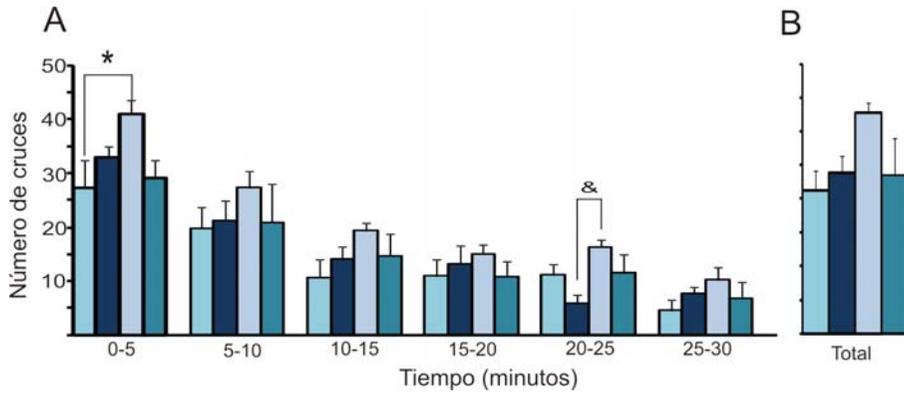


Figura 15. Análisis del número de cruces la prueba de CA en fragmentos de cinco minutos (A) y durante el total de la prueba (B). Nótese la diferencia de KEA+PAI comparado con PAI en el primer lapso (* $p < 0.019$) y con PAI+KEA en el periodo de 20-25 minutos (& $p < 0.016$).

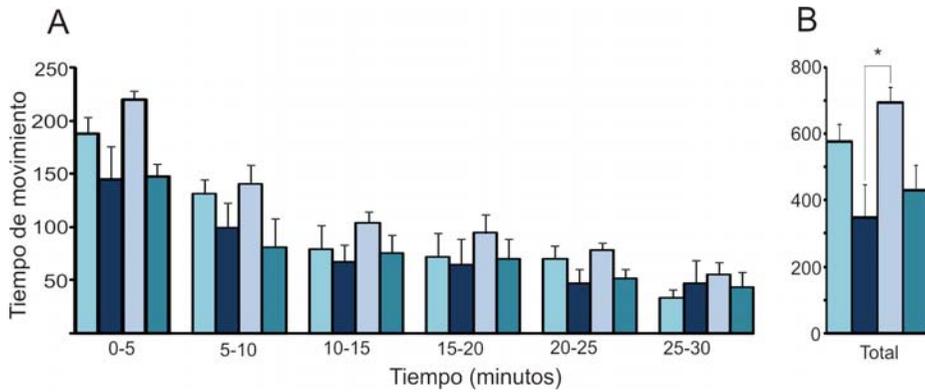


Figura 16. Tiempo de movimiento en segundos de la prueba de CA en periodos de 5 minutos (A) y durante el total de la prueba (B). Obsérvese la reducción del tiempo de movimiento de PAI+KEA comparado con KEA+PAI (* $p < 0.014$).

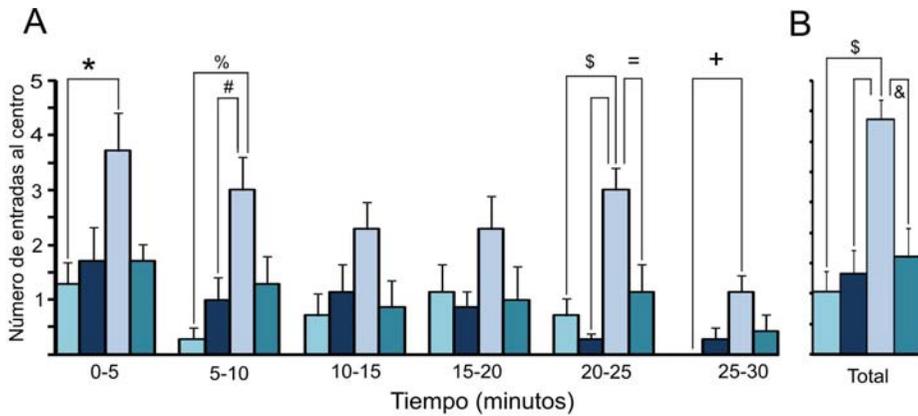


Figura 17. Entradas al centro en la prueba de CA en periodos de 5 minutos (A) y durante el total de la prueba (B). Nótese el mayor número de entradas del grupo KEA+PAI en casi todos los periodos de 5 minutos que se reflejó a su vez en el tiempo total, en comparación con los demás grupos (* $p < 0.026$, % $p < 0.003$, # $p < 0.043$, \$ $p < 0.001$, + $p < 0.018$, & $p < 0.002$, / $p < 0.015$, = $p < 0.011$).

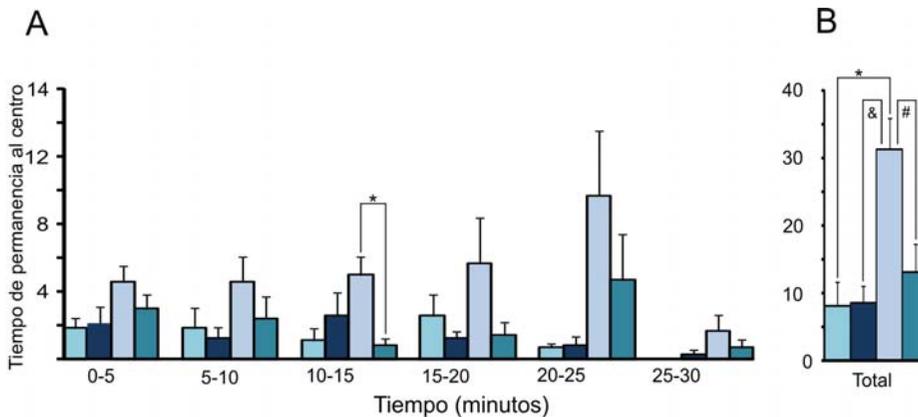


Figura 18. Tiempo de permanencia en el centro en periodos de 5 minutos (A) y durante el total de la prueba (B). Nótese el mayor tiempo de permanencia de KEA+PAI comparado con los demás grupos en el total de la prueba a pesar de que en los fragmentos de 5 minutos sólo se observó una diferencia en el periodos de 10 a 15 minutos (* $p < 0.045$, + $p < 0.001$, & $p < 0.002$ y # $p < 0.015$).

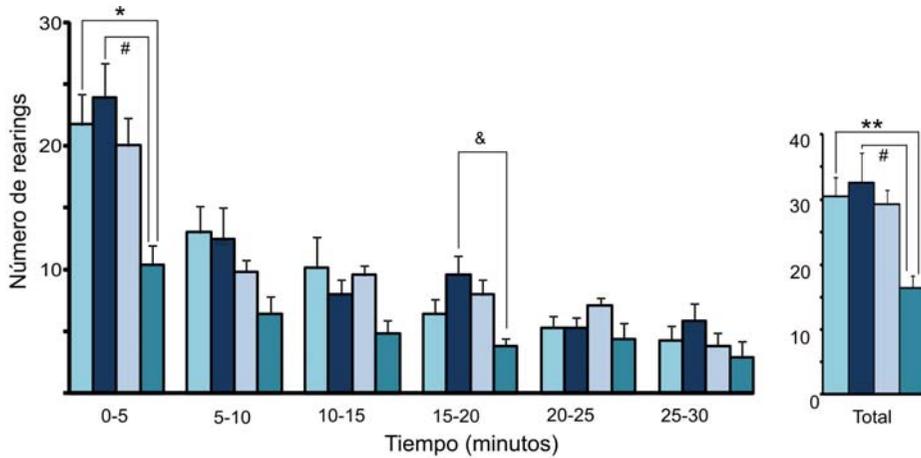


Figura 19. Número de rearings en periodos de 5 minutos (A) y durante el total de la prueba (B). Obsérvese el menor número de rearings en el grupo Sham (* $p < 0.016$, # $p < 0.003$, & $p < 0.023$, + $p < 0.026$, ** $p < 0.008$).

LABERINTO ELEVADO EN CRUZ

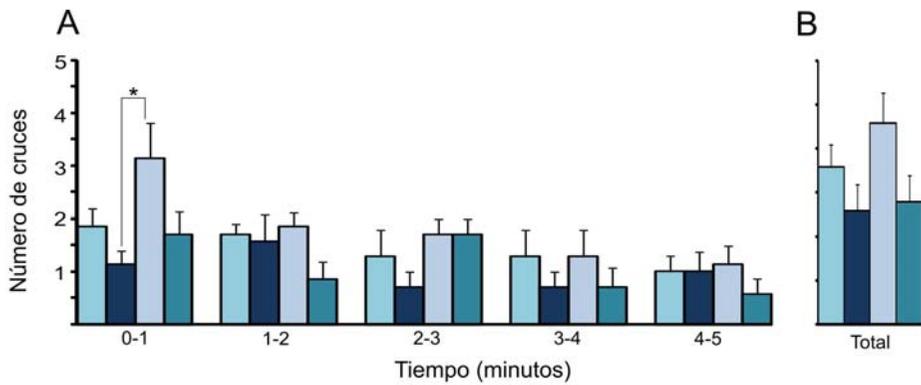


Figura 20. Número de cruces que el animal hace en fragmentos de un minuto (A), y en el tiempo total de la prueba (B) hacia los brazos cerrados. El KEA+PAI presentó un mayor número de cruces en el primer minuto (* $p < 0.026$).

Por otra parte, se observó una correlación positiva en grupo PAI+KEA entre la latencia a entrar en el centro de la prueba Campo Abierto y el número de días para llegar a CCGTC ($r^2 = 0.791$, $p < 0.034$) (figura 21).

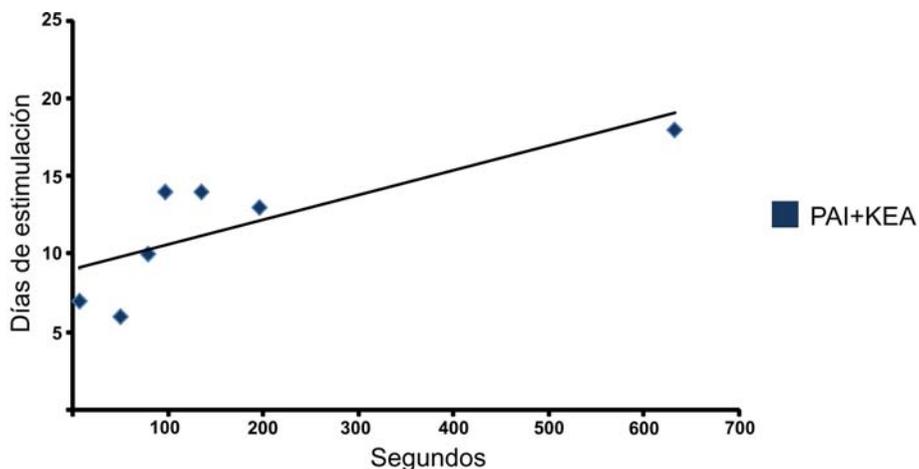


Figura 21. Se observa en el eje de las X, los segundos que el animal tarda en entrar al centro de la prueba de CA y el eje de las Y los días que tardo el animal en llegar a CCGTC. Nótese que mientras mayor sea el tiempo en entrar al centro se observa un mayor número de días en alcanzar una CCGTC ($r^2 = 0.791$, $p < 0.034$).

8. DISCUSIÓN

Los resultados sugieren que la exposición a eventos que generan ansiedad moderada no acelera la epileptogénesis, ni aumenta la severidad de las crisis convulsivas. Sin embargo, sí se incrementa la predisposición a generar actividad ictal. Mientras que las crisis convulsivas afectan, aunque de manera moderada, la expresión de conductas ansiosas.

Efecto de las pruebas de ansiedad condicionada sobre el KEA

No se observaron cambios significativos en frecuencia, duración, permanencia ni días que permanencias los animales en cada estadio, esto nos sugiere que los eventos transitorios que generan conductas tipo ansiosas, no afectan la severidad ni la evolución de las crisis. Es un dato sumamente importante ya que puede denotar que eventos ansiógenos transitorios no son factores que pudieran incrementar la severidad de una crisis. Sin embargo, el aumento de la susceptibilidad para la evocación de espigas ictales independientemente del momento de aplicación de las PAI, previo al inicio del KEA o después de presentar las CCGTC, indicaría que la convergencia de las condiciones ansiógenas leves pueden facilitar el inicio de los eventos ictales. El nulo efecto sobre la epileptogénesis, pudiera deberse a que las PAI son eventos ansiógenos de bajo impacto por los pocos días en los que se presentan y la corta duración de cada prueba, contrario a lo que sucede cuando los animales son sometidos a situaciones altamente estresantes por la intensidad del estímulo o la cronicidad.

El estrés crónico inducido en ratas durante la edad adolescente provoca un aumento en la actividad intrínseca en la BLA, un aumento de la frecuencia de la PD y una menor hiperpolarización, cuando son registradas en la edad adulta (Rau et al., 2015). Es decir, hay un aumento a largo plazo de la hiperexcitabilidad intrínseca de las neuronas en el complejo amigdalino. También se ha observado que la exposición a estrés crónico en edades tempranas acelera la epileptogénesis utilizando el KEA (Lambert, 1995).

En la clínica se ha descrito que en algunos casos el desorden de ansiedad, precede el comienzo de una crisis (Brandt, 2016). Por lo tanto, el incremento de la susceptibilidad para generar espigas sugiere que la exposición a las PAI provocaría cambios en la excitabilidad de la amígdala que estarían asociados al menor umbral para generar espigas, es decir para iniciar las crisis, pero que no afectan la propagación y la generalización de las crisis.

Efecto del KEA sobre las conductas tipo ansiosas

Los animales que fueron sometidos al KEA, mostraron una disminución en las conductas tipo ansiosas. Los datos que existen sobre la modificación de las conductas tipo ansiosas en ratas sometidas al KEA son controversiales. Investigaciones donde se estimuló la BM y la BLA en ambos hemisferios, concluyeron que las conductas ansiolíticas y ansiogénicas dependían del hemisferio estimulado. Observaron que la estimulación del hemisferio derecho generó conductas

ansiógenas y la del hemisferio izquierdo conductas ansiolíticas, incluso las ratas que no fueron sometidas al KEA y sólo les implantaron el electrodo en este hemisferio presentaron efectos ansiolíticos (Adamec & Hywel, 1994). En un segundo experimento se volvieron a comparar los dos hemisferios, asumiendo que el hemisferio izquierdo era ansiolítico *per se*. Sin embargo, los resultados de éste arrojaron que el KEA genera conductas tipo ansiolíticas con la estimulación de la BLA del hemisferio izquierdo comparada con el KEA en la BLA del hemisferio derecho, pero no cuando se comprara con animales control (R. Adamec, Blundell, & Burton, 2004).

Nuestros datos sugieren que el KEA en el hemisferio izquierdo es ansiolítico, por lo observado en la prueba de campo abierto, más entradas y más tiempo en el centro, siendo consistente con el aumento de la locomoción descrito en trabajos previos (R. E. Adamec, 1990). Estas conductas podrían estar asociadas al aumento de los receptores GABA_A en los grupos que fueron expuestos a pruebas de ansiedad antes ser estimulados, esto a causa de la función de los esteroides como la CORT ya que juegan un papel de modulador alosterico que permite la prolongación de apertura a canales selectivos a Cl⁻, que durante el kindling a su vez incrementan la plasticidad inhibitoria por un aumento de sinapsis inhibitorias sobre interneuronas GABAérgicas (Gavrilovici, 2006).

También, la CORT podría estar participando en el decremento de las conductas tipo ansiosas en las ratas sometidas a KEA.

Durante la epileptogénesis la CORT incrementa sus niveles cuando se presenta una crisis severa, pero en el periodo interictal ésta vuelve a sus niveles normales e incluso disminuye de su nivel basal (Kalynchuk, 1999).

La correlación entre los días de estimulación para presentar la primera CCGTC con la expresión de conducta ansiosa por más tiempo en el campo abierto, podría asociarse con los niveles de CORT de los animales. A pesar de no ser estresantes las Pruebas de Ansiedad Incondicionada, conllevan un incremento de los niveles de CORT que se ha relacionado con una mayor expresión del receptor GABA_A, que puede estar relacionado con el retardo de la epileptogénesis (Kalynchuk, 1999).

En general, la exposición a eventos que generan ansiedad moderada no acelera la epileptogénesis, ni aumenta la severidad de las crisis. Sin embargo sí se incrementa la predisposición a generar convulsiones. Mientras que las crisis convulsivas afectan, aunque de manera moderada la expresión de conductas ansiosas.

9. CONCLUSIÓN

La reciprocidad entre ambas patologías se presenta en la evocación de espigas y la exploración en espacios abiertos, conductas que mimetizan aspectos fundamentales de ambas patologías, el inicio de las crisis y el miedo infundado. Sin embargo, es necesario considerar los tipos de epilepsia y el contexto del paciente en el caso de la clínica, así como los modelos empleados en el caso de la investigación básica, que son la principal fuente de controversia.

A pesar de permitirnos saber el efecto que tienen los episodios transitorios conductas tipo ansiosas sobre la epileptogénesis es menester realizar experimentos para saber el efecto que tiene el estrés severo o crónico sobre la epileptogénesis y las conductas tipo ansiosas.

REFERENCIAS

- Adamec, R., Blundell, J., & Burton, P. (2004). Anxiolytic effects of kindling role of anatomical location of the kindling electrode in response to kindling of the right basolateral amygdala. *Brain Research*, 1024(1-2), 44–58.
<http://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.06.074>
- Adamec, R. E. (1990). Does Kindling Model Anything Clinically Relevant? Definition and Properties of Kindling. *Biol Psychiatry*, 27, 249-279.
- Adhikari, A. (2014). Distributed circuits underlying anxiety. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(April), 112.
<http://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00112>
- Berg, A. T., & Scheffer, I. E. (2011). New concepts in classification of the epilepsies : Entering the 21st century, 52(6), 1058–1062. <http://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03101.x>
- Bertram, E. H. (2013). Neuronal circuits in epilepsy: Do they matter? *Experimental Neurology*, 244, 67–74.
<http://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.01.028>
- Beyenburg, S., Mitchell, A. J., Schmidt, D., Elger, C. E., & Reuber, M. (2005). Anxiety in patients with epilepsy: Systematic review and suggestions for clinical management. *Epilepsy & Behavior*, 7(2), 161–171.
<http://doi.org/10.1016/j.yebeh.2005.05.014>
- Bishop, S. J. (2007). Neurocognitive mechanisms of anxiety: an integrative account. *Trends in Cognitive Sciences*, 11(7), 307–316. <http://doi.org/10.1016/j.tics.2007.05.008>
- Brailowsky, S. (1999). *Epilepsia. Enfermedad sagrada del*

- cerebro*, México. Fondo de cultura.
- Brandt, C. O. <http://orcid.org/000-0001-8666-1640>. (2016). Anxiety disorders in people with epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 59, 87–91.
<http://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.03.020>
- Cárdenas, J., & Navarro, J. . F. (2002). Modelos animales de ansiedad incondicionada. *Psiquiatría Biológica*, Vol. 09. Núm. 01. Enero 2002, 9(1), 18–31.
- Cleeren, E., Casteels, C., Goffin, K., Janssen, P & Van-Paesschen, W. (2015). *Epilepsia*.56(9):1366-75.
- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005). The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov*, 4(9), 775–790.
<http://doi.org/10.1038/nrd1825>
- Engel, J. (2006). Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia*, 47(9), 1558–1568. <http://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00215.x>
- Feria-Romero, I. A., Alonso-Vanegas, M., Rocha-Arrieta, L., & Villeda-hernández, J. (2013). Mechanisms of neurodegeneration in temporal lobe epilepsy. *Revista Chilena de Neuropsiquiatría*, 51(2), 137–148.
- Fisher, Robert S., Cross, Helen., French J.A., Higurashi, Norimich., Hirsch, Edouard., Jansen, F.E., Lagae, L., Solomon L., Jukka Peltola, M., Perez, R., Scheffer, I., Zuberi, Sammer, M. (2016). Operational Classification on Seizure Types by the International League Against Epilepsy. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Fisher, R. S. (2015). Redefining epilepsy. *Current Opinion in Neurology*, 28(2), 130–135.
<http://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000174>
- Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470–472.
<http://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x>
- Gavrilovici, C., D'Alfonso, S., Dann, M. & Poulter, M. (2006). Kindling-induced alterations in GABAA receptor-mediated inhibition and neurosteroid activity in the rat piriform cortex. *Eur J Neurosci*. 24(5):1373-84.
- García-Albea, R. (1999). *Historia de la epilepsia*. Madrid: Masson.
- Goddard, G. V, McIntyre, D. C., & Leech, C. K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology*, 25(3), 295–330. [http://doi.org/10.1016/0014-4886\(69\)90128-9](http://doi.org/10.1016/0014-4886(69)90128-9)
- Goldberg, E. M., & Coulter, D. A. (2013). Mechanisms of epileptogenesis: a convergence on neural circuit dysfunction. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(5), 337–349.
<http://doi.org/10.1038/nrn3482>
- Gorter, J. A., van Vliet, E. A., & Lopes da Silva, F. H. (2016). Which insights have we gained from the kindling and post-status epilepticus models? *Journal of Neuroscience Methods*, 260, 96–108.
<http://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.03.025>

- Griffith, N., Engel, J., & Bandler, R. (1987). Ictal and enduring interictal disturbances in emotional behavior in an animal model of temporal-lobe epilepsy. *Brain Research*, 400(1987), 360–364.
- Helfer, V., Deransart, C., Marescaux, C., & Depaulis, A. (1996). Amygdala kindling in the rat: Anxiogenic-like consequences. *Neuroscience*, 73(4), 971–978. [http://doi.org/10.1016/0306-4522\(96\)00081-4](http://doi.org/10.1016/0306-4522(96)00081-4)
- Henke, P. G., & Sullivan, R. M. (1985). Kindling in the amygdala and susceptibility to stress ulcers. *Brain Research Bulletin*, 14(1), 5–8. [http://doi.org/10.1016/0361-9230\(85\)90171-6](http://doi.org/10.1016/0361-9230(85)90171-6)
- Jefferys, J. G. R., & Avoli, M. (2012). Jasper ' s Basic Mechanisms of the Epilepsies Jasper ' s Basic Mechanisms of the Epilepsies Limbic Network Synchronization and Temporal Lobe Epilepsy Jasper ' s Basic Mechanisms of the Epilepsies, (Md).
- Kalynchuk, L., Pinel, J., Treit, D. & Kippin, T. (1997). Changes in emotional behavior produced by long-term amygdala kindling in rats. *Biol Psychiatry*. 41(4):438-51.
- Kalynchuk, L., Pearson, D., Pinel, J. & Meaney, M. (1999). *Effect of amygdala kindling on emotional behavior and benzodiazepine receptor binding in rats*. 877 (1):737-41
- Kim, M. J., Gee, D. G., Loucks, R. A., Davis, F. C., & Whalen, P. J. (2011). Anxiety Dissociates dorsal and ventral medial prefrontal cortex functional connectivity with the amygdala at rest. *Cerebral Cortex*, 21(7), 1667–1673. <http://doi.org/10.1093/cercor/bhq237>
- Kumar, V., Bhat, Z. A., & Kumar, D. (2013). Animal models of

- anxiety: A comprehensive review. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 68(2), 175–183. <http://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.05.003>
- Löscher, W. (1997). Animal models of intractable epilepsy. *Progress in Neurobiology*, 53(2), 239–258. [http://doi.org/10.1016/S0301-0082\(97\)00035-X](http://doi.org/10.1016/S0301-0082(97)00035-X)
- Löscher, W., Hirsch L. & Schmidt D. (2015). The enigma of the latent period in the development of symptomatic acquired epilepsy — Traditional view versus new concepts, *Epilepsy & Behavior*, 52 (2015) 78–92.
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci*, 10(6), 434–445. <http://doi.org/10.1038/nrn2639>
- Milad, M. R., Pitman, R. K., Ellis, C. B., Gold, A. L., Shin, L. M., Lasko, N. B., ... Rauch, S. L. (2009). Neurobiological Basis of Failure to Recall Extinction Memory in Posttraumatic Stress Disorder. *Biological Psychiatry*, 66(12), 1075–1082. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.06.026>
- Megiddo I, Colson A, Chisholm D, Dua T, Nandi A, and Laxminarayan R (2106). Health and economic benefits of public financing of epilepsy treatment in India: An agent-based simulation model. *Epilepsia Official Journal of the International League Against Epilepsy* doi: 10.1111/epi.13294.
- Pastor Gómez, J., Uzcátegui, Y. G., Gal-Iglesias, B., Ortega, G. J., Sola, R. G., & Menéndez De La Prida, L. (2006). Bases

- fisiopatológicas de la epilepsia del lóbulo temporal: Estudios en humanos y animales. *Revista de Neurología*, 42(11), 663–673.
- Phelps, E. A., & LeDoux, J. E. (2005). Contributions of the amygdala to emotion processing: From animal models to human behavior. *Neuron*, 48(2), 175–187.
<http://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.09.025>
- Pitka, A., Lukasiuk, K., Dudek, F. E., & Staley, K. J. (2015). No Title, 1–17.
- Racine, R. J. (1972a). Modification of seizure activity by electrical stimulation: I. after-discharge threshold. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32(3), 269–279. [http://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90176-9](http://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90176-9)
- Racine, R. J. (1972b). Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32(3), 281–294. [http://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](http://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
- Rau, A. R., Chappell, A. M., Butler, T. R., Ariwodola, O. J., & Weiner, J. L. (2015). Increased Basolateral Amygdala Pyramidal Cell Excitability May Contribute to the Anxiogenic Phenotype Induced by Chronic Early-Life Stress. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 35(26), 9730–40.
<http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0384-15.2015>
- Sazgar, M., Carlen, P. L., & Wennberg, R. (2003). Panic attack semiology in right temporal lobe epilepsy. *Epileptic*

- Disorders*, 5(2), 93–100.
- Sylvers, P., Lilienfeld, S. O., & LaPrairie, J. L. (2011). Differences between trait fear and trait anxiety: Implications for psychopathology. *Clinical Psychology Review*, 31(1), 122–137. <http://doi.org/10.1016/j.cpr.2010.08.004>
- Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S., Fenno, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., ... Ramakrishnan, C. (2011). Control of Anxiety, 471(7338), 358–362. <http://doi.org/10.1038/nature09820>. Amygdala
- Valderas, J. M., Sibbald, B., & Salisbury, C. (2009). Defining Comorbidity: Implications for Understanding Health and Health Services. *Annals Of Family Medicine*, (7), 357–363. <http://doi.org/10.1370/afm.983>. Martin
- Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M., Martínez-Vargas, D., Fernández-Mas, R., & Almazán-Alvarado, S. (2008). Long-term changes in sleep and electroencephalographic activity by chronic vagus nerve stimulation in cats, 32, 828–834. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.12.020>
- Wada, A., Introduction, I., Bilateral, B., Amygdaloid, S., Motor, A. P., Seizure, B., ... Introduction, I. (2001). Epilepsy as a progressive (or nonprogressive “ benign ”) disorder, 45.
- Yilmazer-Hanke, D., O’Loughlin, E., & Mcdermott, K. (2016). Contribution of amygdala pathology to comorbid emotional disturbances in temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience Research*, 94(6), 486–503. <http://doi.org/10.1002/jnr.23689>
- Zapata, A. R., Gaona, A., Herrera, A., Castro, M., & Aguillón, P. (1999). Modelo neuronal del fenmeno paroxístico

denominado “kindling”, usado en el estudio de la epilepsia experimental. *Archivos de Neurociencias*.

Zavala-Tecuapetla, C., Leonor, M., Farmacobiología, D. De, Sur, C. S., Neurobiología, M. D. F. P. De, Posgrado, V., & Veracruzana, U. (2011). Modelos experimentales de epilepsia en ratas en desarrollo, 2(228).