



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE PSICOLOGÍA

EFFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL
NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO SOBRE LA
COHERENCIA CORTICAL INTERHEMISFÉRICA Y LA
EXPRESIÓN DE CRISIS EPILÉPTICAS INDUCIDAS CON
PENTILENETETRAZOL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A:
DIEGO EDUARDO FLORES ESCOBAR

JURADO DE EXÁMEN:

TUTOR: DR. DAVID MARTÍNEZ VARGAS
COMITÉ: DR. PABLO GARRIDO BUSTAMANTE
DR. JOSÉ GABRIEL SÁNCHEZ RUIZ
DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ
DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL



CIUDAD DE MÉXICO

MAYO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Se agradece el apoyo, el espacio y los recursos del Laboratorio de Neurofisiología del Control y la regulación de la Dirección de Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz



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

DEDICATORIA

A mis padres, Briseida y Eduardo, y a mis abuelos, Ana María y Eutiquio, por haberme brindado su incondicional apoyo en tantos aspectos.

Al doctor David Martínez Vargas, por haberme dado la oportunidad de aprender del área y por haberme aceptado bajo su tutela. Gracias por haber creído en mí y por otorgarme el espacio y la libertad para aprender a mi ritmo.

A los doctores Víctor Manuel Magdaleno Madrigal y Alejandro Valdés Cruz, por haber compartido sus conocimientos y su tiempo, sus charlas e incluso sus regaños. Gracias por abrir un espacio para todos los estudiantes zaragozanos y demás en el área de la investigación en neurociencias.

A Tania Daniela Mercado Gómez, por haber compartido esta etapa conmigo, por las risas, el cariño y el apoyo sincero que me brindas.

A Alejandro Hernández Peña, por haber compartido toda la carrera conmigo y haberme brindado tu amistad.

Finalmente, a todos los amigos y compañeros del laboratorio: Ale Díaz, Ale Garay, Ana, Mario, Pablo, Fernando, Gerardo, Luis, Dieter, Sam, Allen, César, Edgar. Por hacer ameno el trabajo en el laboratorio día a día.

Índice

1. Índice de Imágenes.....	6
2. Índice de Tablas	6
3. Lista de abreviaturas	7
4. Resumen.....	8
MARCO TEÓRICO.....	10
Epilepsia.....	11
5. Definición.....	11
6. Historia.....	12
7. Clasificación.....	15
8. Prevalencia	18
9. Mecanismos de acción	19
Ictogénesis.....	19
Epileptogénesis.....	23
Electrofisiología	29
10. EEG	29
11. Frecuencia de una señal, potencia y FFT	32
12. Coherencia.....	34
13. Sincronización y desincronización en epilepsia.....	36
Modelos Experimentales.....	38
14. Importancia	38
15. Tipos de modelos	39
16. Pentilenetetrazol.....	40
Tratamiento de la Epilepsia.....	42
17. Tratamiento farmacológico de las epilepsias	42
18. Tratamiento quirúrgico.....	44
19. Otros tratamientos	45
Estimulación del Nervio Vago	48
20. Anatomía y fisiología.....	48
21. Estimulación eléctrica del Vago.....	50
22. Mecanismos de acción	55
JUSTIFICACIÓN	59
23. Planteamiento del problema.....	60
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	62
24. Objetivo general	63
25. Objetivos específicos	63
26. Hipótesis.....	63
MATERIAL Y MÉTODOS	64
Materiales.....	65
27. Animales	65
28. Electrodo.....	65
29. Fármacos	66
30. Equipo utilizado en la cirugía	66
31. Equipo utilizado en el registro EEG y estimulación	66

32. Equipo y reactivos utilizados para histologías	67
33. Varios	67
Métodos.....	68
34. Cirugía para implante de electrodos.....	68
35. Grupos experimentales.....	69
36. Registro electrográfico	69
37. Estimulación del NTS	70
38. Administración de PTZ.....	71
39. Perfusión e Histología.....	71
40. Análisis estadístico.....	72
RESULTADOS.....	74
41. Verificación histológica del implante	75
42. Análisis de potencia espectral	77
43. Análisis de coherencia cortical interhemisférica.....	83
44. Expresión de las crisis generalizadas	85
DISCUSIÓN	88
45. Potencia.....	89
46. Coherencia.....	90
47. Conducta ante las crisis	91
48. Conclusiones	93
REFERENCIAS.....	94
Referencias bibliográficas	95

Índice de Imágenes

Figura 1. Clasificación general de las crisis de acuerdo a la ILAE.....	17
Figura 2. Generación de crisis primariamente generalizadas.....	23
Figura 3. Hans Berger y su electroencefalógrafo.....	30
Figura 4. Complejo espiga-onda	31
Figura 5. Características descriptivas de una onda.	32
Figura 6. Potencia absoluta	34
Figura 7. Dos distintas medidas de sincronización de una señal electrográfica calculadas mediante los métodos de correlación cruzada y coherencia.	35
Figura 8. Línea temporal de introducción al mercado de distintos fármacos antiepilépticos. .	43
Figura 9. Principales blancos de la estimulación cerebral	46
Figura 10. Anatomía del nervio vago.....	48
Figura 11. Proyecciones aferentes y eferentes del Nervio Vago y sus distintos núcleos de relevo.....	49
Figura 12. Horquilla para estimulación vagal transcutánea.	52
Figura 13. Colocación del electrodo helical para estimulación del Nervio Vago.....	53
Figura 14. Parámetros de estimulación eléctrica aplicada al NTS.....	70
Figura 15. Verificación histológica.....	75
Figura 16. Cambios en la potencia espectral en la corteza prelámbica izquierda	79
Figura 17. Cambios en la potencia espectral en la corteza motora izquierda	80
Figura 18. Cambios en la potencia espectral en la corteza prelámbica derecha.....	81
Figura 19. Cambios en la potencia espectral en la corteza motora derecha.....	82
Figura 20. Porcentaje de cambio de la coherencia cortical interhemisférica.....	84
Figura 21. Número de crisis convulsivas presentadas durante la duración del protocolo de administración de PTZ.....	85
Figura 22. Duración de las crisis y latencia a la aparición de la primera crisis	86
Figura 23. Ocurrencia y duración de Estatus Epiléptico.....	87

Índice de Tablas

Tabla 1. Definición operacional de la epilepsia	12
Tabla 2. Prevalencia de la epilepsia en México	18
Tabla 3. Genes pertenecientes a distintas clases funcionales e involucrados en el proceso de epileptogénesis.....	26
Tabla 4. Biomarcadores potenciales	28
Tabla 5. Estadios conductuales de las crisis presentadas al administrar Pentilenetetrazole	41
Tabla 6. Núcleos del nervio vago y sus principales funciones	50

Lista de abreviaturas

5HT	Serotonina
AP	Área póstrema
ARN	Ácido ribonucleico
CA3	Cornu ammonis
CF	Conectividad funcional
Cl	Cloro
COH	Coherencia
DEI	Descargas epileptiformes interictales
ECP	Estimulación cerebral profunda
EE	Estatus epiléptico
EEG	Electroencefalograma
ELT	Epilepsia del lóbulo temporal
ENR	Estimulación responsiva de circuitos cerrados
ENV	Estimulación del nervio vago
FAE	Fármacos antiepilépticos
FDA	Administración de alimentos y medicamentos
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
ILAE	Liga internacional contra la epilepsia
LC	Locus coeruleus
MES	Electroshock máximo
NDR	Núcleo dorsal del rafe
NE	Norepinefrina
NMD	Núcleo motor dorsal
NST	Núcleo espinal trigémino
NTS	Núcleo del tracto solitario
NV	Nervio vago
OMS	Organización mundial de la salud
PTZ	Pentilenetetrazole

Resumen

La epilepsia se caracteriza por una predisposición recurrente a generar crisis debidas a una hipersincronización y sobreexcitación de grupos neuronales, se trata además de uno de los padecimientos más comunes del sistema nervioso y que se presenta en mayor medida en países en vías de desarrollo como México. Aunque más de la mitad de los pacientes presenta una buena respuesta al tratamiento con fármacos antiepilépticos el resto de ellos continúa sufriendo de crisis epilépticas o no muestra una reducción significativa de las mismas, afortunadamente existen alternativas como la estimulación de estructuras del sistema nervioso capaces de modular la actividad epiléptica. La Estimulación eléctrica del Nervio Vago es una alternativa para el tratamiento de las crisis parciales con o sin generalización secundaria, sobre la cual la eficacia clínica está bien documentada y existe un gran volumen de investigación respecto a sus mecanismos mediadores, sin embargo a la fecha no se ha brindado una explicación concluyente sobre éstos; se ha propuesto que uno de ellos podría estar mediado por un efecto desincronizador global de la actividad cortical. En el presente trabajo se aplicó estimulación eléctrica al Núcleo del Tracto Solitario, el primer sitio de relevo de la mayoría de las aferentes vagales hacia el cerebro, seguido de la aplicación de un modelo químico de inducción de crisis generalizadas con el fin de determinar si la estimulación eléctrica del NTS es capaz de generar un efecto desincronizador de la actividad intercortical y si éste constituye un modulador potencial de las crisis convulsivas generalizadas. Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa Wistar implantadas con electrodos de registro de manera bilateral en cortezas prelímbica y motora, así como un electrodo para estimulación del NTS. Se formaron tres grupos experimentales de acuerdo al implante realizado (n=8): Control: solo implante de electrodos para registro, ENTS: implante de electrodos para registro de cortezas así como para estimulación del NTS y Sham: implante de

electrodos de corteza y de NTS, sin aplicar estimulación eléctrica al último. Las ratas fueron registradas por tres horas diarias durante cinco días y al finalizar el registro del quinto día se realizó el protocolo de administración de Pentilenetrazol. Se procedió a perfundir y realizar la histología pertinente. Se realizó un análisis comparando los valores de potencia de los grupos Control, SHAM y ENTS mediante la prueba ANOVA de un factor, seguida por las post hoc de Scheffé o Games Howell con un nivel de significancia de $p < 0.05$ para cada banda de potencia: delta (0.2-4.5 Hz), teta (5-10 Hz), alfa (11-14 Hz), beta (15-20 Hz) y gama (21-50 Hz). En el grupo ENTS se analizó el porcentaje de cambio de la coherencia cortical interhemisférica de cada día con respecto a una medida inicial. Se utilizó la prueba ANOVA de medidas repetidas, con una post hoc de Bonferroni y un nivel de significancia de $p < 0.05$ para cada una de las bandas de frecuencia. Finalmente, se contabilizó el número, latencia y duración de crisis tónicas y tónico-clónicas, así como número y duración de estatus epilepticus. Se utilizó la prueba T de Student para muestras independientes y el estadístico exacto de Fisher para las comparaciones. Se observó un incremento significativo de la potencia en la mayoría de las bandas, con un efecto diferencial de acuerdo al hemisferio y a la corteza registrada; adicionalmente encontramos un aumento en la potencia que persistía aún tras la hora de estimulación del NTS. En cuanto al análisis de coherencia los cambios más evidentes se observaron en corteza prelámbica sin embargo ninguno de éstos resultó estadísticamente significativo. Las ratas del grupo ENTS presentaron un número de crisis convulsivas generalizadas significativamente menor. La ausencia de cambios significativos en los valores de coherencia cortical sugieren que los cambios en la sincronía medida entre hemisferios no constituyen uno de los principales mecanismos que median la eficacia de la estimulación del nervio vago al frenar las crisis y reducir el número y frecuencia de estas a largo plazo.

MARCO TEÓRICO

Epilepsia

Definición

La epilepsia es uno de los padecimientos más comunes del sistema nervioso central, se trata de una enfermedad caracterizada por una predisposición recurrente a generar crisis epilépticas y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales asociadas a esta condición. Sin embargo, para una mejor comprensión de la misma es preciso aclarar en qué consisten las crisis epilépticas: una crisis es la ocurrencia transitoria de signos y/o síntomas debidos a actividad neuronal anormalmente excesiva o sincrónica en el cerebro (Fisher et al., 2014). Tanto signos como síntomas pueden ser muy variados debido a la diversidad de etiologías capaces de desencadenar la enfermedad, pudiendo ocurrir desde breves alteraciones del estado de conciencia hasta signos motores tónicos y contracciones musculares que constituyen el estereotipo de cómo luce una crisis; motivo por el cual suele decirse que se trata en realidad de un conjunto de trastornos neurológicos o epilepsias agrupados bajo un común denominador.

Un aspecto importante a tomar en cuenta para que una crisis pueda ser considerada como epiléptica es que ésta no debe ser provocada por algún factor temporal o reversible que produzca su aparición en un momento dado; tal como mencionan López-Meraz et al. (2009): la epilepsia no debe confundirse con la aparición de una crisis aislada, si bien las crisis son las alteraciones motoras y sensoriales resultantes de la actividad neuronal excesiva, esta última puede deberse a eventos agudos o aislados, no relacionados con la epilepsia, como aquellos causados por una conmoción cerebral, fiebre o abstinencia al alcohol entre otros.

La última revisión de la definición de epilepsia realizada en 2014 por La Liga Internacional Contra la Epilepsia, ILAE por sus siglas en inglés, reconoce la necesidad de adaptar también una definición operacional actualizada que permita una mejor aplicabilidad en un ámbito clínico

(Tabla 1). Algunas observaciones importantes realizadas al momento de formularla fueron: el otorgarle la cualidad de enfermedad más que de un simple desorden para así resaltar tanto la seriedad de sus consecuencias como el que se trata de una alteración más perdurable de la función normal; se declaró la posibilidad de diagnosticar dicha enfermedad a partir de la ocurrencia de una sola crisis y apoyándose en el conocimiento de factores etiológicos particulares para cada caso, puesto que anteriormente solo podía diagnosticarse a partir de la ocurrencia de dos crisis en un periodo mayor a 24 horas para descartar posibles desencadenantes agudos o temporales; por último, se permite tanto el diagnóstico en caso de síndromes en los cuales la probabilidad de ocurrencia de crisis es baja pero presente así como la posibilidad de declarar la resolución de la enfermedad en síndromes particulares o ante condiciones temporales específicas (Fisher et al, 2014).

Tabla 1. Definición operacional de la epilepsia

La epilepsia es una enfermedad del cerebro caracterizada por cualquiera de las siguientes condiciones:

- Al menos dos crisis no provocadas que ocurren en un espacio de tiempo mayor a 24 horas.
- Una crisis no provocada y una probabilidad de presentar crisis en los próximos 10 años similar al riesgo general de recurrencia ($\geq 60\%$) después de dos crisis no provocadas.
- Diagnóstico de un síndrome epiléptico.

La epilepsia se considera resuelta para aquellos individuos que tenían un síndrome epiléptico dependiente de la edad pero que han rebasado la edad límite para éste, o para aquellos que han permanecido libres de crisis por los últimos 10 años y sin medicación para las crisis por los últimos 5.

Modificado de Fisher et al., 2014.

Historia

Hoy en día no hay duda alguna de que la epilepsia es una enfermedad cuyo origen se encuentra en el cerebro sin embargo al volver la vista atrás esta postura no siempre ha estado del

todo clara, históricamente han predominado dos interpretaciones distintas: por una parte se le ha considerado una enfermedad del cuerpo y por otra un desorden mental equivalente a la locura o de carácter mágico religioso. Este debate ha sido frenado en el último siglo gracias las pruebas obtenidas mediante registros electrofisiológicos, los cuales han corroborado que se trata de un desorden funcional del encéfalo (Korczyń et al., 2017).

Desde la aparición de la escritura en las antiguas culturas Mesopotámica, Hindú y China se han descrito manifestaciones de enfermedades que bien podrían referirse a algún tipo de epilepsia, así como de sus implicaciones en la vida de los que las padecían y para la sociedad; el código Hammurabi, escrito alrededor del 1750 a.C. y perteneciente a la cultura mesopotámica ya menciona la posibilidad de anular contratos de compra-venta de esclavos si éstos presentaban espasticidad o un exagerado tono muscular (Brailowsky, 1999).

En lo que respecta a la cultura grecorromana, aunque Alcmaeon de Croton y Demócrito de Abdera pudieron haber escrito trabajos previos, el primer texto que sobrevivió al tiempo fue “Sobre la enfermedad sagrada”; en este escrito de alrededor del 450- 400 a.C. Hipócrates declara que la epilepsia, la cual es reconocida entre sus contemporáneos como una enfermedad sagrada o causada por los dioses, no es más sagrada ni divina que las demás enfermedades a las que por cierto atribuye una causa natural; adicionalmente en su texto distingue un inicio frecuente en la infancia así como un componente hereditario, sin embargo al momento de otorgarle una explicación fisiológica a la enfermedad se remite exclusivamente a la teoría de los humores aduciendo que se trata de un exceso de flema bloqueando el libre flujo de aire con sus respectivas consecuencias, desde pérdida de la conciencia hasta el defecar durante una crisis. Su postulado principal es aun así un gran avance en el entendimiento de la etiología epiléptica situándola en el terreno de las causas naturales (Korczyń et al., 2017).

La tradición del racionalismo griego se desvaneció de a poco al final de la era antigua con la caída del imperio romano y el levantamiento de la teología judeocristiana con su énfasis en la escatología y la denigración del mundo físico y el cuerpo humano. Tuvieron que pasar más de 14 siglos para que en la llamada época de oro de la neurología occidental se diera un impulso definitivo no solo al estudio científico de las epilepsias sino al de la fisiología cerebral en general: la introducción del bromuro en 1857 para el tratamiento clínico de la epilepsia significó un gran avance y en 1870 el inglés Hughlings Jackson fue capaz de relacionar paroxismos motores en los músculos de la mano con alteraciones vasculares en la región de la arteria cerebral media; por otra parte los experimentos de Volta y Galvani sobre bioelectricidad y los trabajos de Golgi y Cajal en neuroanatomía añadirían nuevas dimensiones al estudio de la epilepsia; finalmente los experimentos de Caton darían lugar al comienzo de un estudio intensivo del cerebro desde una perspectiva electrofisiológica, tema al que se le dedicará atención más adelante (Brailowsky, 1999).

En el intermedio de todo este tiempo predominó una visión totalmente distinta, originada en los inicios de la era cristiana, según la cual se consideraba que un sujeto al ser víctima de una crisis era poseído por el poder de algún ente sobrenatural o invadido por una fuerza divina a la cual debía obedecer; de hecho una de las principales manifestaciones de lo que actualmente se atribuye a la hiperactivación de regiones del lóbulo temporal y de la ínsula es la evocación de experiencias religiosas y espirituales que en cierto contexto histórico bien podrían haber sido interpretadas como estados de inspiración extrema en que un profeta recibía un mensaje divino (Brailowsky, 1999; Brodtkorb, 2015).

Hay que tener en mente que la evidencia disponible sobre los puntos de vista antiguos acerca de la epilepsia depende de textos que sobrevivieron en gran medida de manera circunstancial y

que no siempre constituyen una representación exacta de los constructos populares acerca de la enfermedad o de las prácticas médicas de cada época; finalmente, puede afirmarse con seguridad que más que reflejar un proceso estable de la ignorancia hacia la información, la historia de la epilepsia hasta nuestros días puede ser mejor descrita como un antagonismo continuo entre creencias en poderes supernaturales y aproximaciones científicas (Theodore, 2015; Wolf, 2015).

Clasificación

La posibilidad de una clasificación de la epilepsia es fundamentalmente una herramienta clínica para evaluar a los individuos que se presentan con crisis en un servicio de salud, aunque su utilidad e impacto se extiende tanto a los dominios de la investigación clínica y básica como al desarrollo de nuevas terapias. La clasificación provee un marco de referencia para entender el tipo de crisis que el paciente presenta, qué otras podría presentar, los posibles desencadenantes de éstas y a menudo su prognosis, así como el riesgo de comorbilidades y mortalidad; por último pero no menos importante, guía la selección de posibles terapias y tratamientos (Scheffer et al., 2017).

La clasificación en epilepsia data al menos de los tiempos de Hipócrates pero Gastaut ostenta el mérito de proponer la primera clasificación moderna en el año de 1969. Un intenso debate y la adquisición de nuevos conocimientos en las siguientes dos décadas condujeron a la clasificación del 85 y subsecuentemente a una versión ratificada por la asamblea general de la ILAE en 1989, la cual ha tenido una gran influencia mundial y un impacto mayor en la investigación y en el cuidado de pacientes. Aunque la investigación moderna ha mostrado que la epilepsia es una enfermedad de redes neuronales más que un síntoma de anormalidades locales del cerebro y a pesar de que el conocimiento de las redes crece rápidamente, éste aún no es suficiente para

fungir como base para una clasificación rigurosamente científica de las crisis. Por tanto, las propuestas actuales están basadas en los últimos entendimientos científicos acompañados por la opinión de expertos y profesionales en epilepsia de la comunidad mundial (Fisher, 2016; Scheffer et al., 2017).

Actualmente la clasificación de las epilepsias se basa en tres distintos niveles de diagnóstico, pensada así para servir de la mejor forma en función de los recursos e información disponibles en el entorno clínico, permitiendo una clasificación multinivel y recomendando un diagnóstico en cada uno de ellos de ser posible:

1. En el primer nivel solo es posible determinar el tipo de crisis dado que podría no haber acceso a estudios de EEG, video o imagenología o la información puede ser limitada como para realizar un diagnóstico mayor. Aquí se distinguen tres grandes grupos: crisis de inicio focal ya sean unifocales o multifocales, así como convulsiones en un solo hemisferio; crisis de inicio generalizado que involucran a ambos hemisferios y crisis de inicio desconocido, en las que el clínico es incapaz de determinar si su inicio es focal o generalizado(Figura 1); se toma en consideración la presencia o ausencia de signos motores y en el caso de aquellas focales es posible hacer una mayor distinción de acuerdo al nivel de consciencia de la persona durante la crisis.
2. El segundo nivel de clasificación se basa en el tipo de epilepsia e incluye a la epilepsia focal, epilepsia generalizada, epilepsia combinada (presencia de crisis focales y generalizadas, como en los síndromes de Dravet y Lennox-Gastaut) y epilepsia de inicio desconocido. Muchas epilepsias pueden incluir múltiples tipos de crisis y el diagnóstico a este nivel suele realizarse sobre una base clínica, apoyándose en evidencia electroencefalográfica de periodos ictales e interictales.

3. El tercer nivel es un diagnóstico del síndrome epiléptico y es posible de realizar cuando además del tipo de crisis se posee información sobre estudios electroencefalográficos y de imagenología, etiología, edad de inicio y remisión (si procede), desencadenantes de las crisis, variaciones durante ciclos circadianos, severidad y pronóstico. Existen muchos síndromes bien reconocidos como la epilepsia infantil de ausencia o el síndrome de West (Scheffer et al., 2017).

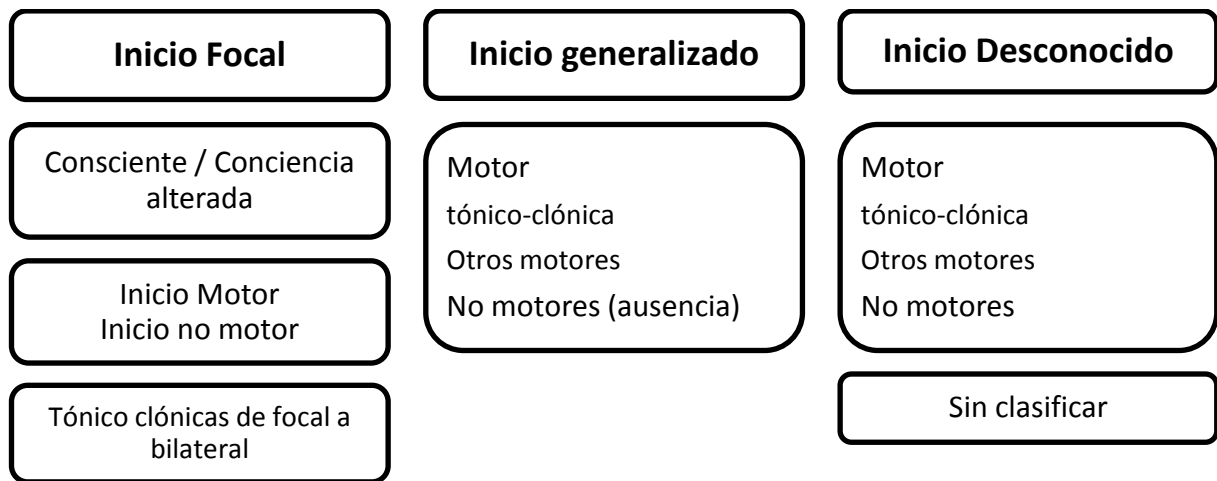


Figura 1. Clasificación general de las crisis de acuerdo a la ILAE. Modificado de Fisher et al., 2016.

En cuanto a la etiología se consideran seis posibles categorías, teniendo epilepsia de origen: estructural, genética, metabólica, inmune e infecciosa, así como un grupo de origen desconocido para aquellos pacientes en los cuáles no ha sido posible determinar las causas. En ocasiones éstas clasificaciones suelen sobreponerse, pudiendo tener una epilepsia que presente distintos orígenes; esta categorización no presenta un orden jerárquico y su utilidad sirve a distintos propósitos, un paciente con esclerosis tuberosa tiene una etiología tanto estructural como genética, la identificación estructural es crítica para la cirugía mientras que su origen genético aporta información para la consideración de nuevas terapias como los inhibidores de la mTOR, una vía molecular posiblemente implicada en epilepsia (Fisher et al., 2014; Scheffer et al., 2017).

Prevalencia

La prevalencia es uno de los índices que le otorgan a la epilepsia la categoría de problema de salud pública, se trata de una cifra que indica el número de personas que presentan el padecimiento dividido entre la población en riesgo de padecerlo en un momento y lugar determinados. Basándose en los datos disponibles a nivel mundial se sabe que esta enfermedad presenta su mayor prevalencia en las primeras décadas de vida y en la llamada tercera edad; además una cifra establecida por la OMS concede que existen 7 enfermos por cada 1000 personas en el mundo, dando como resultado entre 40 y 50 millones de pacientes con un padecimiento epiléptico; sin embargo los índices no son uniformes y en países en vías de desarrollo como aquellos pertenecientes a América Latina y el Caribe las cifras se sitúan en una media de 17.8 por cada 1000 habitantes (Reséndiz, 2013). En México, el Programa Prioritario de Epilepsia, órgano oficial de la Secretaría de Salud ocupado en atender este problema, reporta algunos datos provenientes de estudios epidemiológicos realizados en distintas regiones del país (Tabla 2), aunque cabe mencionar que dicha información no se encuentra actualizada puesto que no suelen realizarse tales estudios con la frecuencia debida (Pedroza, Millán & Peñaloza, 2010).

Tabla 2. Prevalencia de la epilepsia en México

Año	Resultado	Observación	Referencia
1976	18.3/1000	Escolares de 9 años, Tlalpan, D.F.	Neuroepidemiology 1993;2:16-23
1991	10.8/1000	23 000 Escolares >8 años. México	Epilepsia1991; 32: 111
1992	11.1/1000	Todas las edades Naolinco, Ver.	Archivos INNN 1993; 8-3
1933-94	20.1/1000	Todas las edades Comalcalco, Tab.	C. personal

Cantidad de personas por cada 1000 habitantes que han presentado algún tipo de epilepsia según distintos estudios realizados en nuestro país. Modificado de Pedroza et al., 2010.

Mecanismos de acción

Una neurona promedio forma y recibe de mil a diez mil sinapsis y, puesto que el cerebro humano posee al menos cien mil millones de neuronas, en él se forman entre 10^{14} y 10^{15} conexiones sinápticas, lo que conforma una red capaz de manejar información privilegiada que permite explicar desde el accionar más simple de un músculo hasta funciones tan complejas como la percepción del tiempo. El adecuado nivel de funcionamiento para las tareas a realizar depende de un perfecto equilibrio funcional de la actividad neuronal que se activa e inhibe en diferentes sitios del sistema nervioso central y periférico; cuando en el encéfalo se presenta un descontrol del manejo sináptico y ocurre una descarga neuronal exagerada, no modulada, impredecible y con manifestaciones clínicas características se genera una crisis epiléptica. Dado que las neuronas son células excitables, no es de extrañar que las crisis sean el resultado directo o indirecto de cambios en la excitabilidad de grupos neuronales (Rodríguez Leyva, 2013; Westbrook, 2013).

Puede decirse que en el estudio de la epilepsia la mayoría de las investigaciones suelen encaminarse a responder alguna de las dos grandes interrogantes acerca de esta enfermedad, es decir: 1) ¿qué determina que se presente una crisis en un momento específico y en algunos otros no? Y 2) ¿qué cambios se presentan en el cerebro de manera tal que lo predisponen a generar crisis de manera recurrente?

Ictogénesis.

La epilepsia es una condición paroxística caracterizada por repetidas crisis transitorias separadas por largos periodos interictales. Se conoce como ictogénesis al proceso de transición de un estado interictal hacia una crisis, pasando por un periodo preictal; todos ellos con signos

clínicos y características electrográficas distintivas. Se trata de un proceso rápido que ocurre en periodos de segundos a minutos y se sabe que el intervalo entre eventos ictales no es aleatorio sino que más bien éstos últimos suelen ocurrir en agrupaciones temporales. Por otra parte, la cirugía en pacientes epilépticos ha permitido distinguir distintas zonas involucradas en este proceso: la zona epiléptica es el área responsable de las crisis y puede no ser la misma o coincidir tan solo en parte con la zona de la lesión epiléptica. La zona de inicio ictal es aquella en donde se inicia la crisis y desde donde la actividad eléctrica anormal suele propagarse hacia otras áreas que producen los síntomas ictales, conocida como zona sintomatogénica, finalmente el área que produce las descargas interictales es llamada zona irritativa y a menudo es más amplia que la zona epiléptica (Blauwblomme, Jiruska & Huberfeld, 2014). En cuanto a la clasificación temporal de los periodos por los que atraviesa la ictogénesis podemos distinguir tres de ellos bien delimitados:

- Periodo interictal: inicia tras haber culminado una crisis y termina con la aparición de la siguiente; es muy variable, pudiendo presentar latencias de días, meses e incluso años antes de la aparición del siguiente evento.
- Periodo preictal: el estado preictal es aquel que se mueve de manera determinística hacia una crisis, durante éste se presentan cambios en la dinámica neuronal y cerebral que contribuyen a llevar el sistema hacia un punto o umbral en el cual aumenta la probabilidad de que pequeñas perturbaciones generen una crisis: durante éste se han detectado incrementos en el flujo sanguíneo cerebral regional sin embargo los índices más exitosos son aquellos de sincronización, los cuales han podido ser detectados dentro de una ventana de tiempo de hasta 20 minutos previos a la crisis.
- Periodo ictal: También identificado y delimitado como la crisis misma.

A pesar de la gran variabilidad presente entre las crisis definidas en la clínica, el comprender las principales características de la generación de la actividad ictal puede facilitarse comparando los patrones electrográficos de crisis parciales y generalizadas. La característica principal de las crisis parciales es que la actividad eléctrica anormal se origina en un foco, es decir un pequeño grupo de neuronas que tienen una excitabilidad aumentada y la habilidad de ocasionalmente propagar esa actividad hacia regiones colindantes. Las neuronas dentro de un foco epiléptico tienen un tipo de respuesta eléctrica sincronizada y estereotipada conocida como giro paroxístico despolarizante, una despolarización intracelular repentina, larga y duradera, que elicitaba un tren de potenciales de acción seguidos por una hiperpolarización. Mientras la actividad se mantenga confinada a un pequeño grupo de neuronas no se presentan manifestaciones clínicas, esto es posible gracias a los efectos inhibitorios de interneuronas GABAérgicas en el tejido colindante que son activadas por la misma región excitada; sin embargo, debido a la constante actividad del foco la inhibición periférica es superada y la hiperpolarización del foco original desaparece gradualmente, reclutando neuronas adyacentes y generando un tren de potenciales de acción de alta frecuencia (Westbrook, 2013).

A diferencia de las crisis focales, en una crisis primariamente generalizada la actividad de ambos hemisferios se altera de manera simultánea. El tipo más estudiado de crisis generalizadas es la crisis de ausencia típica, cuyo EEG característico –el patrón espiga onda- fue identificada por Berger en 1933 y relacionado estrechamente con este tipo de crisis por Gibbs, quien hipotetizó que se debían a perturbaciones corticales generalizadas. En contraste con esta postura, Penfield y Jaspers observaron que la actividad del EEG durante las crisis de ausencia era muy parecida a los husos de sueño; propusieron una hipótesis centroencefálica según la cual la rápida generalización era atribuible a actividad rítmica marcada por agregados neuronales en el tallo

cerebral o el tálamo, los cuales proyectan de manera difusa hacia la corteza. Los circuitos del tálamo se encuentran adecuadamente organizados para la generación de crisis primariamente generalizadas: las neuronas de relevo talámicas expresan de manera robusta canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje de tipo T (transitorios), los cuales se encuentran inactivados en el potencial de membrana en reposo pero están disponibles para su activación cuando la célula se hiperpolariza; el patrón de activación talámica durante el sueño sugiere una activación recíproca entre las neuronas de relevo y las interneuronas GABAérgicas, las interneuronas hiperpolarizan a las neuronas de relevo permitiendo la activación de los canales de Ca^{2+} , lo cual genera una respuesta oscilatoria mediada por los disparos de las neuronas de relevo talámicas, las cuales estimulan a las interneuronas y conducen a otra ronda de disparos. Adicionalmente, las neuronas de relevo talámicas poseen proyecciones difusas hacia neuronas corticales de amplias regiones (Figura 3) (Westbrook, 2013).

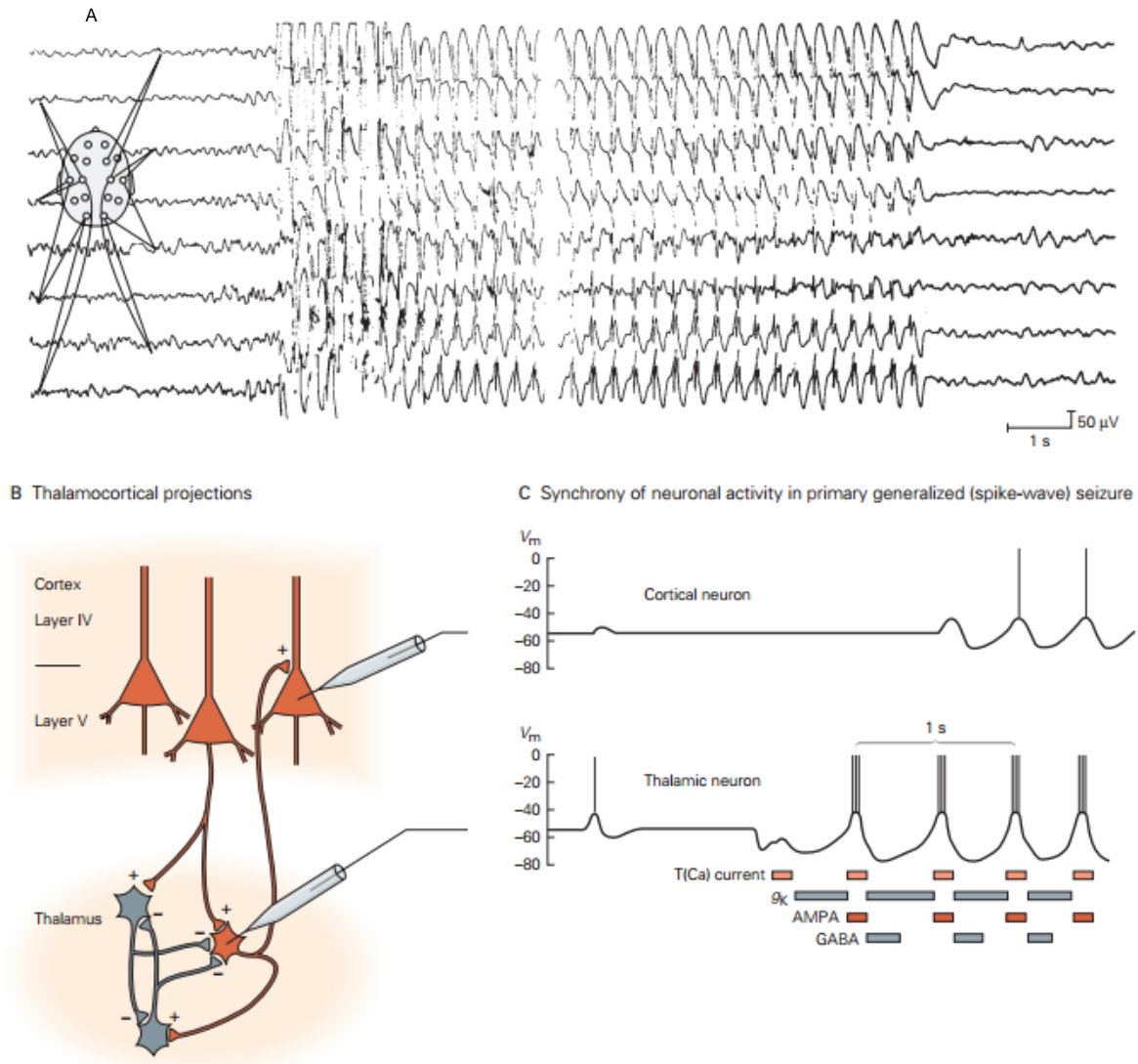


Figura 2. Características de las crisis primariamente generalizadas. A grandes rasgos: (A) Inicio de una crisis generalizada observable en todos los canales de registro de un paciente que presenta crisis de ausencia, (B) células piramidales corticales conectadas de manera recíproca con neuronas de relevo talámicas (color naranja), las interneuronas GABAérgicas del tálamo (color gris) son activadas por las primeras e inhiben a su vez a las células de relevo talámicas, (C) la actividad neuronal de células corticales y talámicas se sincroniza durante la expresión de una crisis generalizada. Tomado de Westbrook, 2013.

Epileptogénesis.

La mayoría si no es que todos los tipos de epilepsia se desarrollan en un momento determinado de la vida previo al cual el cerebro funciona normalmente pero en el que tras cierta secuencia de desarrollo o en respuesta a algún tipo de daño los circuitos neuronales llegan a ser

hiperexcitables generando crisis recurrentes y espontáneas (López-Meraz, 2009). Se conoce como epileptogénesis a dicho proceso, por lo general complejo y multifactorial, por medio del cual un cerebro previamente normal se vuelve epiléptico; este término se ha utilizado tradicionalmente en el contexto de las epilepsias adquiridas, sin embargo ha comenzado a tener cierta relevancia para algunas otras de etiología distinta como las genéticas, en las cuales el proceso podría estar regulado por expresión génica dependiente del desarrollo, conduciendo a la generación de circuitos anormales en algún punto durante la maduración (Goldberg & Coulter, 2013; Pitkänen & Lukasiuk, 2011).

La investigación sobre epileptogénesis en comparación con aquella sobre ictogénesis es bastante reciente: tanto los neurocientíficos experimentales como clínicos del siglo XX estaban más interesados en la generación de crisis que en el proceso por el cual el cerebro desarrolla un potencial epileptógeno duradero. Fue hasta 1967 cuando comenzó a crecer el interés en éste último gracias a que Goddard, realizando experimentos sobre aprendizaje, observó que tras sucesivas estimulaciones eléctricas en la formación hipocampal algunas ratas presentaban crisis epilépticas; una aproximación más en el estudio de la epileptogénesis fue el desarrollo de modelos animales de crisis espontáneas crónicas y recurrentes desencadenadas tras la administración de una estimulación eléctrica o de fármacos como la bicuculina, pilocarpina o el ácido kaínico, provocando por medio de ellos la inducción de un estado epiléptico, el cual en última instancia produce lesiones muy similares a aquellas de la esclerosis hipocampal reportada en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal mesial; de hecho la mayoría de las asunciones sobre mecanismos epileptógenos provienen del estudio del hipocampo esclerótico en animales experimentales (Pitkanen & Engel, 2014).

Clásicamente se ha considerado que el proceso de la epileptogénesis ocurre en tres fases: en primer lugar la ocurrencia de un evento o lesión precipitante; seguido por un periodo latente durante el cual se ponen en acción cambios a distintos niveles ya sea molecular, anatómico o de circuitos y que transforman al cerebro normal en uno con la predisposición para generar crisis; finalmente, se habla de la presencia de una epilepsia crónica bien establecida. Más recientemente se han llegado a utilizar los conceptos de epileptogénesis y periodo de latencia como términos operacionales equivalentes para referirse al lapso de tiempo que inicia tras la ocurrencia del evento precipitante y termina con la aparición de la primera crisis espontánea. (Goldberg y Coulter, 2013; Pitkänen y Lukasiuk 2011).

Pitkänen y Lukasiuk (2011) al comparar datos de diversos estudios sobre genes regulados de manera anormal durante el proceso de epileptogénesis notaron que había 46 de ellos con funciones bien conocidas que se encontraban alterados tanto en el modelo de Estatus epiléptico como de Lesión traumática cerebral, indicando cierto grado de similitud en los eventos moleculares. (Tabla 3). Es importante mencionar que por sí solos los genes individuales muestran distintos patrones de expresión: algunos se encuentran regulados durante la fase latente y aún tras el diagnóstico de epilepsia, mientras que otros sólo lo están de manera transitoria; además es posible que unos sean regulados como parte de los cambios epileptógenos y otros más en respuesta al proceso de recuperación secundario a la lesión precipitante. En este sentido, estudiar las alteraciones en el transcriptoma al nivel de vías de señalización o de grupos funcionales de genes ha brindado mejores resultados que el enfocarse en genes individuales y ha llamado la atención sobre procesos generales como la regulación de transcripción/transducción de señales y algunos más específicos como inflamación, transporte iónico, transmisión sináptica, entre otros.

Tabla 3. Genes pertenecientes a distintas clases funcionales e involucrados en el proceso de epileptogénesis

Grupos funcionales	Genes (n)
Señalización célula-célula	12
Transporte iónico	12
Transmisión sináptica	10
Regulación de proliferación celular	9
Respuesta a lesiones	8
Respuesta inmune	8
Comportamiento	7
Regulación de apoptosis	7
Inmunidad mediada por leucocitos	6
Regulación de transmisión sináptica	6
Respuesta adaptativa inmune	5
Aprendizaje o memoria	5
Respuesta inflamatoria	5
Proliferación celular	5
Regulación de fosforilación	5
Activación de complementos	4
Regulación de plasticidad sináptica	4
Respuesta a estímulos de hormonas esteroideas	4
Transporte lipídico	3
Respuesta a estrés oxidativo	3

Número de genes relacionados con distintos procesos que se han visto activados durante el proceso de epileptogénesis. Modificado de Pitkänen y Lukasiuk, (2011)

A nivel celular se han propuesto distintos mecanismos, agudos y crónicos, involucrados en la epileptogénesis; se ha observado por ejemplo que la ocurrencia de crisis repetidas media procesos de necrosis y apoptosis celular, los cuáles han sido implicados como un factor causal que conduce al desarrollo de la epilepsia mediante procesos secundarios: es bien conocido que la movilización de células madre endógenas dirigida a sustituir la pérdida neuronal en el cerebro adulto es capaz de reducir los efectos negativos en pacientes con enfermedades neurodegenerativas, sin embargo también es capaz de promover el desarrollo de circuitos aberrantes y contribuir al desarrollo de crisis crónicas en la epilepsia. (Lukawski, Andrés-Mach y Czuczwar, 2018)

Aunque es probable que múltiples mecanismos epileptógenos se traslapen hasta cierto grado, para que cualquiera de estos cambios ya sea una alteración de las vías moleculares de señalización o en la función de un tipo específico de células o canales iónicos logre generar crisis, debe hacerlo alterando la actividad de los circuitos neuronales, es decir grupos de células nerviosas de distintos tipos interconectadas unas con otras para formar un ensamble cuya operación está dirigida a una función particular; por tanto la epilepsia es inextricablemente un fenómeno que no puede ser entendido fuera del contexto de las redes. Claro ejemplo de esto puede observarse en el lóbulo temporal, donde existe una íntima relación entre hipocampo y corteza entorrinal formada por múltiples bucles de circuitos indispensables para las operaciones normales que toman parte en procesos de memoria y aprendizaje pero que también lo vuelven vulnerable a generar actividad eléctrica anormal. Algunos elementos discretos de estos circuitos se han visto comprometidos en la ELT tal como la puerta dentada: bajo condiciones normales el giro dentado filtra gran parte de la actividad sincrónica proveniente de la corteza entorrinal hacia CA3, fenómeno conocido como puerta dentada y atribuido mayormente a las propiedades electrofisiológicas de las células granulares e interneuronas GABAérgicas de esta región; en modelos animales de epileptogénesis se ha observado una alteración temporal en el funcionamiento de la puerta durante el periodo latente, mediada por alteraciones del receptor GABA_A, variaciones en el gradiente de Cl controlado por cotransportadores y pérdida aguda de interneuronas en el hilo dentado. (Goldberg y Coulter 2013).

Los estudios sobre epileptogénesis en humanos son difíciles de realizar debido a que se requiere de un monitoreo de los pacientes que inicie a partir del evento precipitante, el cual puede ser determinado con cierta precisión si se trata de una lesión traumática cerebral pero que en la mayoría de los casos no tiene un punto de inicio bien definido o éste es discreto y casi

imposible de identificar. El uso de biomarcadores, es decir las características objetivamente medibles que identifican confiablemente el desarrollo, presencia, severidad, progresión o localización de una anomalía epileptógena, es bastante difuso hasta ahora, sin embargo su investigación es prometedora tanto para la prevención como el diagnóstico de la epilepsia; a la fecha se han propuesto varios biomarcadores potenciales (Tabla 4), los cuales pueden ser registrados con una variedad de técnicas desde Resonancia magnética hasta perfiles de expresión de genes (Pitkänen y Engel, 2014).

Tabla 4. Biomarcadores potenciales

Cambios funcionales y estructurales en el hipocampo detectados mediante IRM/TEP
Características de espigas interictales, incluyendo fIRM
Oscilaciones patológicas de alta frecuencia
Excitabilidad- EMT
Imagenología AMT-TEP
Perfiles de expresión génica
Micro ARN's

IRM=imagenología por resonancia magnética; TEP= tomografía por emisión de positrones;fIRM= IRM funcional; EMT=Estimulación Magnética Transcraneal; AMT=alfa-metyl tirosina

Modificado de Pitkänen y Engel, 2014.

Electrofisiología

EEG

Debido a su bajo grado de invasividad el electroencefalograma es la herramienta más útil en el diagnóstico y clasificación de las epilepsias, secundario solamente al historial clínico. Se trata de un registro dependiente del tiempo de las diferencias de potencial eléctrico (voltaje) en sitios referidos del cerebro, las cuales han sido demostradas gracias a la investigación básica ser las resultantes de la suma de la actividad sináptica sincrónica en las regiones más próximas a los electrodos de registro; por su parte, los potenciales de acción realizan una muy pequeña contribución al EEG dado que son lo suficientemente breves como para presentarse de manera sincrónica (Fisher, 1989).

El estudio de la epilepsia cambió drásticamente con la posibilidad de aplicar el registro EEG en humanos, propuesta generada por el psiquiatra alemán Hans Berger en 1929 y que en sus inicios permitió establecer una relación directa entre los estados de conciencia y la actividad electrofisiológica del cerebro (Figura 3); el mismo Berger demostró que durante el estado de alerta aparecen ritmos rápidos de bajo voltaje y que al iniciarse el sueño se presentan ritmos lentos y de alto voltaje. Su descubrimiento fue seguido por investigaciones pioneras sobre el EEG de pacientes epilépticos, elucidando patrones electrográficos tanto normales como anormales (Faingold, 2014). El descubrimiento de la electroencefalografía fue un hito en el avance de las neurociencias y la práctica cotidiana neurológica, especialmente para los pacientes con crisis ya que la verdadera naturaleza de la enfermedad y por ende su adecuado manejo eran desconocidos en aquel tiempo (Tudor, Tudor y Tudor, 2005).

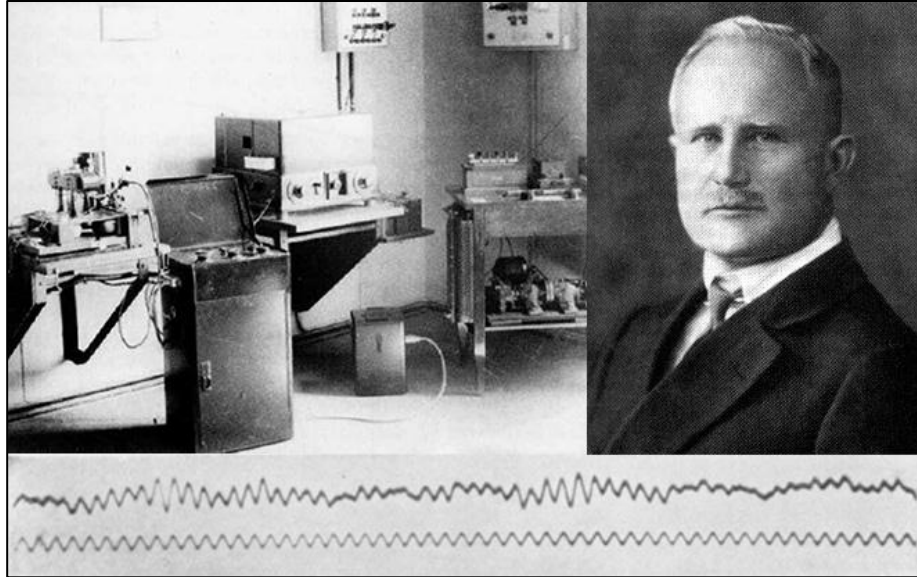


Figura 3. Hans Berger y su electroencefalógrafo

La posibilidad de realizar un registro de la actividad eléctrica del cerebro no fue el resultado del trabajo de un solo hombre. El descubrimiento accidental de Galvani de la electricidad biológica hacia finales del siglo XVIII condujo al desarrollo de la batería de Volta; valiéndose de esta última, Rolando fue el primero en estimular la superficie del cerebro dando pie a que en 1870 Fritsch, Hitzig y Ferrier desarrollasen la idea de localización cerebral gracias sus experimentos sobre estimulación galvánica en el encéfalo de perros. Gracias a ellos se supo que la estimulación eléctrica de ciertas zonas era capaz de producir una respuesta motora contralateral al hemisferio estimulado pero era desconocido si existía una corriente eléctrica intrínseca en el cerebro que pudiera ser registrada; Caton fue el primero en hacer un reporte acerca de “la corriente en las sustancias grises en el cerebro abierto” gracias a haber detectado oscilaciones en el voltaje de sus registros aún en ausencia de estímulos, esto en trabajos que inicialmente pretendían estudiar la localización de funciones sensoriales en el cerebro de conejos y monos. Basándose en el descubrimiento de Caton y algunos otros, Berger llevó a cabo el primer registro EEG en el ser humano el 6 de Julio de 1924 durante la operación de un joven de

17 años realizada por el neurocirujano Nikolai Gulek. Berger reportaría este evento hasta el año de 1929 usando los términos de ondas alfa y beta para referirse a las dos distintivas formas de actividad previamente descritas e incluyendo registros propios y de su hijo en la publicación. Los complejos espiga onda (Spitzen wellen) también observados por él pero considerados erróneamente como artefactos, fueron descritos pronto por el grupo americano de pioneros en el EEG conformado por Gibbs, Davies, Lenox y Jaspers (Guevara, Hernández y Sanz, 2010; Tudor et al., 2005).

Las descargas ictales son un ejemplo de la sincronización extrema del EEG; se han reconocido desde la última mitad del siglo pasado a diversos patrones electrográficos como característicos de la actividad epiléptica, por ejemplo: durante las crisis de ausencia el EEG muestra complejos espiga-onda rítmicos que duran de 3-4 segundos (Figura 4) mientras que en las crisis tónico clónicas suele observarse al inicio una desincronización paradójica de bajo voltaje, seguida de actividad rítmica aguda a una frecuencia de 15-25 Hz, desacelerando a frecuencias menores y resolviéndose en espigas o poliespigas y ondas lentas; después de las crisis el registro EEG suele aplanarse y se ralentiza en comparación con la línea base por varios minutos, fenómeno conocido como periodo refractario (Fisher, 1989).

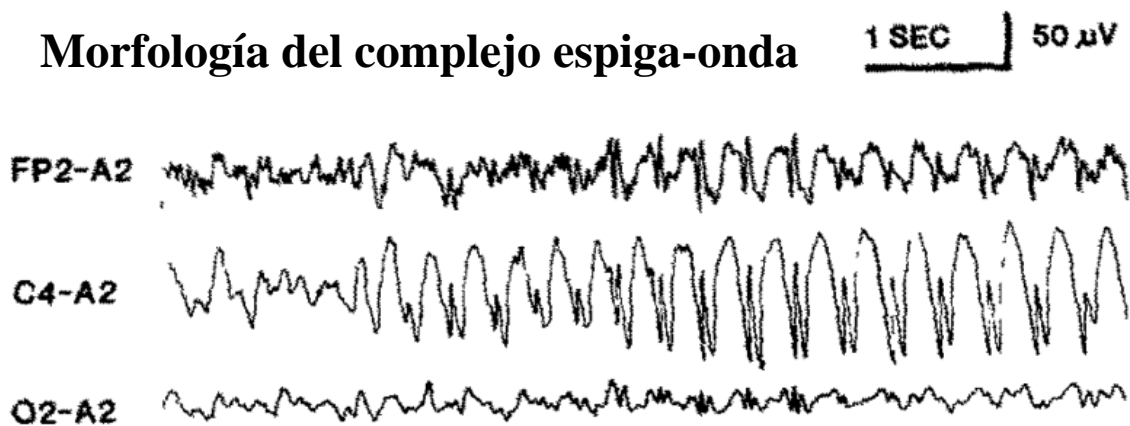


Figura 4. Complejo espiga-onda, Modificado de Tudor et al., 2005.

Frecuencia de una señal, potencia y FFT

El EEG contiene actividad rítmica, identificable incluso en los datos crudos sin filtrar ni procesar; esta actividad refleja oscilaciones neuronales, es decir fluctuaciones en la excitabilidad de poblaciones de neuronas, que pueden ser descritas por tres características: frecuencia, potencia y fase (Figura 5). La frecuencia es la velocidad de una oscilación y se mide en Hertz (Hz) o ciclos por segundo, la potencia es la cantidad de energía en una banda de frecuencia y se considera como la amplitud al cuadrado de una oscilación, finalmente, la fase es la posición a lo largo de la onda sinoidal en cualquier punto temporal medida en radianes o grados. La potencia y la fase son independientes una de la otra, por lo que las dinámicas neuronales medidas mediante potencia son distintas de aquellas medidas a través de la fase (Cohen, 2014).

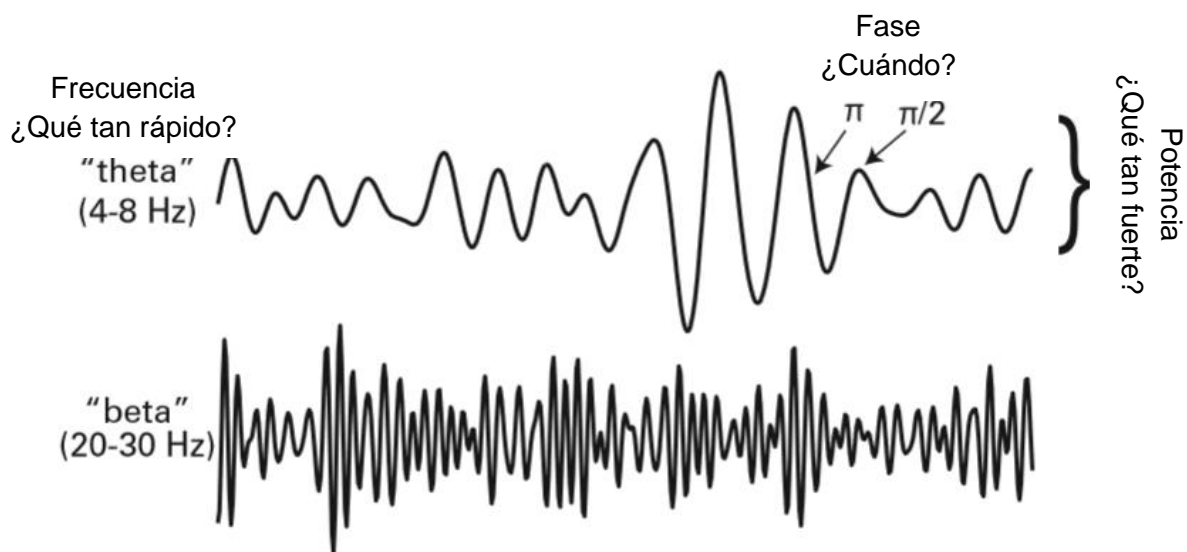


Figura 5. Características descriptivas de una onda: frecuencia, potencia y fase de dos ondas distintas. Modificado de Cohen, 2014.

Los ritmos cerebrales se han agrupado clásicamente en bandas definidas por frecuencias centrales y anchos de banda que incrementan de manera logarítmica. Este agrupamiento no es arbitrario, es resultado de distintos mecanismos neurobiológicos responsables de las oscilaciones cerebrales, incluyendo el decaimiento sináptico y la dinámica de transmisión de señales. Una

oscilación suele ser definida como la alteración rítmica entre distintos estados, éstas pueden ocurrir en tiempo y espacio y son comunes en los sistemas físicos y biológicos; en el cerebro el término oscilación se refiere a fluctuaciones rítmicas en la excitabilidad de neuronas o de poblaciones neuronales. Uno de los principales mecanismos fisiológicos implicado en la producción de oscilaciones en grandes grupos neuronales se basa en la interacción entre interneuronas inhibitorias y células piramidales excitatorias: cuando una población de células piramidales se activa su excitación incrementa mientras se estimulan unas a otras, las interneuronas dentro de esta población también son activadas y conforme su disparo incrementa las células excitatorias son inhibidas; la activación de las interneuronas decreta subsecuentemente permitiendo un nuevo aumento en el disparo de las células piramidales. Este balance cambiante entre excitación e inhibición provee el esqueleto básico de una oscilación (Cohen, 2014).

La actividad cerebral contiene entonces oscilaciones de múltiples frecuencias que pueden ser separadas mediante técnicas de procesamiento de señales. De la misma forma en que las estaciones de radio transmiten simultáneamente pero pueden ser aisladas de acuerdo a la banda de frecuencia en que transmiten la información, diferentes procesos cognitivos y funciones neuronales parecen utilizar distintos rangos de frecuencia o conjuntos de rangos de frecuencia.

La transformada de Fourier es una técnica de análisis de señales muy importante en el análisis de datos de series de tiempo. Para poder trabajar un registro EEG con medidas cuantitativas es necesario utilizar métodos basados en series de tiempo provenientes de las señales digitalizadas, el análisis espectral de Fourier es un método de cuantificación de series de tiempo que descompone una forma de onda compleja en una suma lineal de componentes de ondas más elementales basadas en senos y cosenos, lo cual permite ejecutar el análisis lineal

correspondiente de manera más eficiente mediante simples cambios del dominio del tiempo al de las frecuencias. El resultado de la transformada de Fourier permite visualizar los distintos componentes de frecuencia que constituyen a una señal y calcular de manera cuantitativa la potencia (o amplitud al cuadrado) de cada uno de ellos, así como agruparlas en bandas de frecuencia particulares. La suma de todos los valores de potencia del espectro es conocida como potencia absoluta total y puede ser entendido como el área comprendida entre la curva del espectro y el eje de las abscisas (Figura 6) (Cohen, 2014; Guevara et al., 2010).

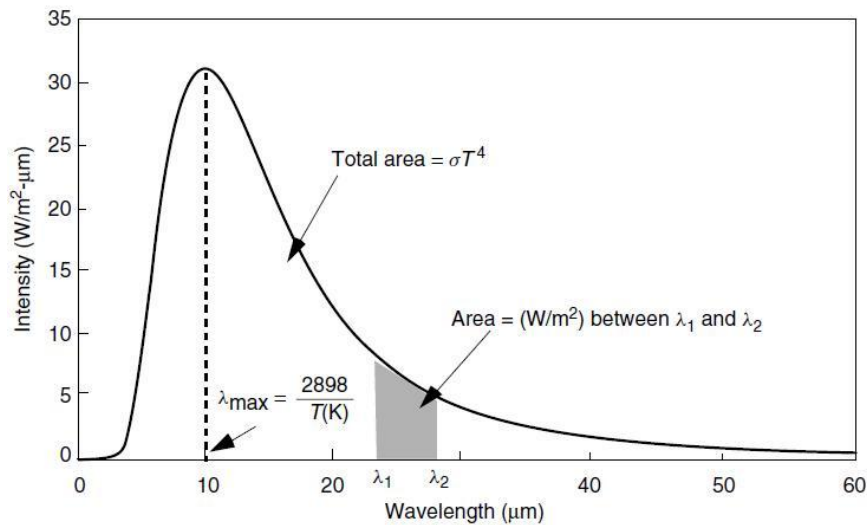


Figura 6. Ejemplo de potencia absoluta de una señal, en este caso del espectro emisor de la radiación solar. El análisis de potencia puede ser utilizado para analizar un gran número de fenómenos.

Coherencia

Históricamente se han utilizado dos aproximaciones distintas para estudiar la arquitectura cerebral: la segregación y la integración funcional. Mientras que la primera se enfoca en el desglose anatómico de regiones cerebrales delimitadas y especializadas en realizar ciertas funciones, la segunda hace énfasis en la interacción entre dichas regiones al llevar a cabo una tarea específica. Uno de los principales métodos mediante los cuales se ha estudiado la integración es la conectividad funcional, es decir el estudio de las correlaciones temporales entre

eventos neurofisiológicos espacialmente distintos. Siendo el EEG un registro continuo de las fluctuaciones en el voltaje generadas por las distintas zonas cerebrales registradas a lo largo de un periodo de tiempo, es posible realizar un análisis cuantitativo de sus señales y someterlas a estudios de conectividad funcional. Éste tipo de análisis se apoya en técnicas basadas en el dominio de la frecuencia como la coherencia (COH), y otras basadas en el dominio del tiempo como la correlación (Figura 7) (Guevara et al., 2010).

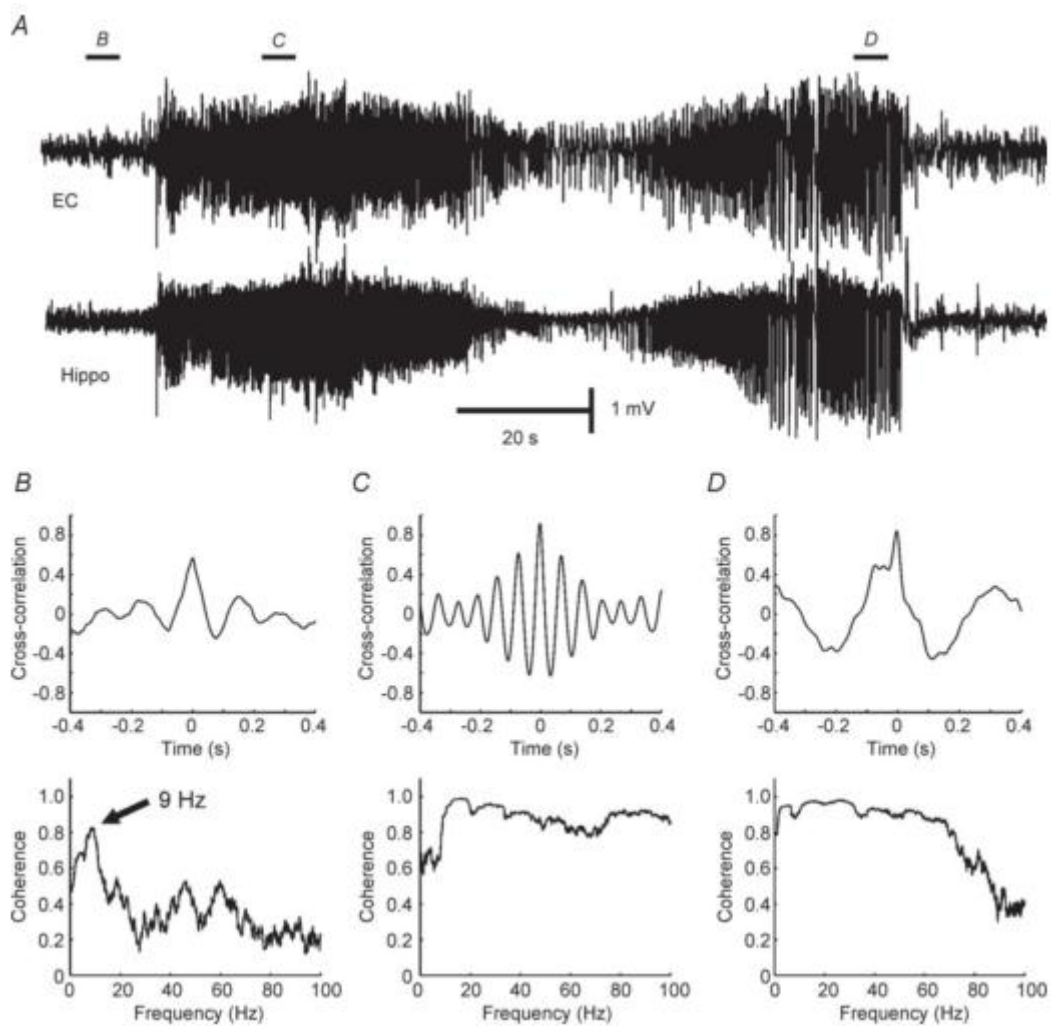


Figura 7. Dos distintas medidas de sincronización de una señal electrográfica calculadas mediante los métodos de correlación cruzada y coherencia. Las gráficas B, C y D representan las medidas de ambos métodos de medición de sincronía para tres momentos diferentes: antes de la aparición de una crisis, en la fase inicial y en la fase final de la misma respectivamente. Sobre la señal electrográfica se muestran las barras correspondientes a cada una de las medidas, nótese que el método de coherencia es capaz de detectar un incremento en la misma a una frecuencia de 9Hz previo al inicio de la crisis. Tomado de Jiruska (2013)

La coherencia es un índice matemático basado en el análisis espectral que permite determinar el grado de semejanza entre dos señales electrográficas midiendo la covarianza lineal de éstas en función de la frecuencia, tomando en cuenta tanto los cambios de amplitud como de fase. La coherencia está definida entre los valores 0 (coherencia mínima) y 1 (coherencia máxima). Siendo la coherencia una función de la frecuencia, también es común presentarla de manera espectral, es decir como los valores de coherencia en cada frecuencia del espectro; además cabe comentar que, como muchos otros análisis de conectividad funcional, la coherencia no informa sobre relaciones causales de la actividad de una red neuronal sobre otra, a diferencia de la conectividad efectiva. En este sentido la diferencia entre ambos tipos de conectividad es análoga a la existente entre correlación y causalidad (Cohen, 2014).

Sincronización y desincronización en epilepsia

Si bien la sincronía implica que dos sistemas convergen de manera asintótica de tal forma que sus trayectorias se vuelven idénticas y tal dinámica es estructuralmente estable, la actividad de sistemas desiguales como los de las neuronas y sus poblaciones puede asemejarse más nunca sincronizarse de manera total. Por tal motivo la sincronía en los sistemas neuronales ha sido tradicionalmente inferida mediante métodos de correlación lineal o coherencia, entre otros (Jiruska et al., 2013).

La sincronización en la epilepsia es un fenómeno complejo y tanto aumentos como decrementos de sincronía son una característica integral de ella en distintos momentos. Si bien Penfield y Jaspers hipotetizaron que las crisis son una forma extrema de actividad sináptica sincrónica además de que por mucho tiempo se asumió que los sitios donde el EEG muestra descargas ictales de alta amplitud participan activamente en las crisis, la relación a distintos

niveles espaciotemporales es en realidad más compleja: diversos estudios subrayan que la sincronización del EEG y de los potenciales de campo local (inputs de poblaciones neuronales, locales o no locales, subumbrales) podría estar dissociada de la sincronización de las espigas (outputs unicelulares locales, supraumbrales). Se debe mantener en mente este fenómeno cuando se investiga la heterogeneidad de la actividad durante las crisis mediante señales electrográficas registradas a distintas escalas (Jiruska et al., 2013).

Modelos Experimentales

Importancia

Los modelos animales tanto de crisis como de epileptogénesis han jugado un rol fundamental en el entendimiento de los cambios fisiológicos y anatómicos asociados a la epilepsia en el humano, asimismo desde la primera mitad del siglo XX han contribuido al desarrollo de fármacos antiepilépticos, muchos de los cuales aún son prescritos hoy en día. Dichos modelos se realizan en un amplio rango de animales, desde drosophila hasta primates no humanos y son lo suficientemente diversos como para permitir estudiar la plétora de aspectos relevantes asociados a esta enfermedad (Sarkisian, 2001).

Se considera como modelo al resultado de una manipulación o al animal experimental mismo (en el caso de los modelos genéticos, por ejemplo) que reproduce de manera fiel una o varias de las características propias de un fenómeno, siendo en este caso el que nos ocupa la epilepsia. Sin embargo antes de que cualquiera de estos modelos pueda ser considerado como tal, debe cumplir la mayoría de las siguientes condiciones:

1. Exhibir un correlato electrofisiológico similar a aquel característico de las crisis y la epilepsia.
2. Las etiologías deben ser parecidas.
3. Si la condición en humanos se caracteriza por una edad de inicio específica, el modelo que pretenda emularla debe ajustarse para reflejar un periodo equivalente.
4. Si la condición en humanos se caracteriza por cambios patológicos específicos, como lesiones focales o displasia cortical, el modelo animal debe presentarlas.
5. Tanto el modelo como la condición a modelar deben responder de manera similar a los fármacos antiepilépticos.

6. Las expresiones conductuales deben reflejar de alguna forma a las observadas en humanos.

Tipos de modelos

Los modelos animales se sirven de distintas técnicas incluyendo administración de agentes químicos, estimulación eléctrica, lesiones térmicas o por hipoxia, lesiones traumáticas, activación optogenética y creación de cepas de roedores susceptibles a presentar crisis. El repasar todos y cada uno de los modelos es una tarea por demás extenuante por lo que en este caso conviene resumir las ventajas y desventajas de las distintas categorías en que se agrupan: aquellos dependientes de fármacos permiten la rápida generación de crisis y la investigación de mecanismos epileptógenos, también han sido utilizados en gran medida en el tamizaje de fármacos antiepilépticos, todo esto a expensas de una alta tasa de mortalidad de los sujetos experimentales y gran variabilidad en la frecuencia y severidad de las crisis espontáneas; en contraste, los protocolos de estimulación eléctrica suponen un menor riesgo para los sujetos experimentales y facilitan el control de las crisis y su progresión, llegando a ser costosos y a requerir bastante tiempo para ser llevados a término por otra parte; las lesiones térmicas, por hipoxia o traumáticas suelen aproximarse en mayor medida a las condiciones etiológicas de ciertos síndromes, pero las inconsistencias dependientes del procedimiento experimental minan la posibilidad de realizar comparaciones significativas entre animales y humanos; finalmente, las cepas genéticamente susceptibles a presentar crisis eliminan bastante de la artificialidad de las manipulaciones de los procedimientos experimentales, pero las alteraciones genéticas precisas no siempre son conocidas además de que ciertos estímulos sensoriales desencadenantes aún son requeridos (Kandratavicius et al., 2014).

Pentilenetetrazol

Entre los modelos dependientes de un agente quimioconvulsivo la administración sistémica del antagonista de GABA_A, Pentilenetetrazol (PTZ), es bien conocida por inducir crisis generalizadas. En dosis pequeñas ha sido utilizado como un modelo de crisis de ausencia y en cantidades mayores es capaz de generar crisis convulsivas clónicas y tónico clónicas, así como estatus epiléptico; es además, junto con el modelo de Electroshock Máximo (MES), uno de los modelos más utilizados para valorar la eficacia de fármacos antiepilépticos (Luttjohann, Fabene y Luijtelaar, 2009).

Aunque en el cerebro las sinapsis glutamatérgicas excitatorias representan una vasta mayoría, aquellas de tipo inhibitorio juegan un rol esencial previniendo un exceso de excitación o coordinando la actividad entre redes neuronales. En la mayoría de las neuronas del sistema nervioso central los potenciales postsinápticos de tipo inhibitorio son generados por los neurotransmisores GABA y Glicina, siendo mediados en el caso del primero por el receptor GABA_A, un receptor ionotrópico que abre directamente un canal iónico transmembranal permeable a Cl⁻, permitiendo su entrada a la neurona, hiperpolarizándola y volviéndola menos excitable. Por tanto la administración sistémica de un antagonista de dicho receptor, como el PTZ, actúa en última instancia impidiendo la entrada de Cl⁻ a las neuronas, imposibilitando su hiperpolarización (Westbrook, 2013).

Luttjohann, Fabene y Luijtelaar (2009) buscando establecer una escala conductual que evaluara de manera precisa las crisis inducidas con PTZ, implementaron un protocolo de administración del fármaco que les permitió observar distintas expresiones comportamentales y su correlato electrográfico ante una serie de inyecciones lo suficientemente espaciadas como para impedir que el animal experimental presentara una crisis inmediatamente o entrara en estatus

epilepticus. El protocolo consistió en aplicar una dosis inicial de 20 mg/kg vía intraperitoneal (i.p.) y dosis sucesivas cada 15 minutos de 10 mg/kg i.p.; de esta manera pudieron identificar once categorías comportamentales y agruparlas posteriormente en seis estadios conductuales indicadores de distintas intensidades de crisis, basándose en su distribución temporal, latencia y el patrón EEG asociado a cada una. (Tabla 5)

Tabla 5. Estadios conductuales de las crisis presentadas al administrar Pentilenetrazole

Estadios de intensidad

- 1) Arresto comportamental repentino o mirada al vacío
- 2) Mioclonias faciales del hocico u hocico y ojos
- 3) Mioclonias del cuello
- 4) Crisis clónica en posición sentada
- 5) Convulsiones incluyendo crisis clónicas y/o tónico clónicas acostada sobre su abdomen y/o crisis puramente tónicas
- 6) Convulsiones incluyendo crisis clónicas y/o tónico clónicas acostada de lado y/o saltos descontrolados

Conductas mostradas ante la administración de distintas dosis de Pentilenetrazole. La lista se presenta en orden descendente de acuerdo a la severidad. Modificado de Luttjohann, Fabene y Luijtelaar, 2009.

Tratamiento de la Epilepsia

Las epilepsias se encuentran entre los desórdenes crónicos más serios del cerebro y aunque afortunadamente alrededor de un 65% de los pacientes pueden ser controlados con tratamiento farmacológico el resto de ellos continúa presentando crisis recurrentes aun siendo medicados o éstas son por completo resistentes a este tipo de intervención, lo cual implica repercusiones para su calidad de vida, un estigma social e inclusive un mayor riesgo de mortalidad. En la clínica se considera que si se han probado dos o tres regímenes de tratamiento farmacológico y éstos no han resultado en un completo control de las crisis el diagnóstico de la epilepsia o del síndrome epiléptico debe ser reevaluado para una mejor intervención; por otra parte si se confirma una epilepsia refractaria deben considerarse métodos quirúrgicos o de estimulación cerebral (Targas, 2014).

Tratamiento farmacológico de las epilepsias

El tratamiento con fármacos se considera la intervención de primera mano por excelencia debido a su disponibilidad y bajo nivel de invasividad; entre los principales criterios para iniciarlo se encuentran el tener la certeza del diagnóstico y de que el riesgo de recurrencia de crisis para un paciente es elevado.

Los fármacos antiepilépticos actúan sobre el sistema nervioso central y por lo general son altamente liposolubles pues requieren atravesar la barrera hematoencefálica. Históricamente se han clasificado en tres generaciones: la primera comprende a aquellos comercializados entre 1857 y 1958 e incluye al bromuro de potasio, fenobarbital y varias moléculas derivadas de la estructura de los barbitúricos, muchos de los cuales vieron la luz asociados a la investigación sobre propiedades sedantes de ciertos compuestos, de hecho hasta 1930 se creía que todo buen

FAE debía tener propiedades sedantes, durante este periodo también se desarrollaron varios fármacos específicos para tratar crisis de ausencia; la segunda generación incluye fármacos introducidos entre 1960 y 1975 como la carbamazepina, muy importante para el control de crisis subintrantes propias del estatus epiléptico, o el ácido valproico, reconocido por su amplio espectro de acción ante crisis parciales y generalizadas; a partir de 1980 comenzaron a comercializarse compuestos de tercera generación como la vigabatrina y gabapentina, pensados para intervenir sobre mecanismos más específicos como la potenciación GABAérgica o la reducción de hiperexcitabilidad mediada por neurotransmisores excitatorios, además se comenzó a realizar una búsqueda de agentes con propiedades farmacocinéticas más adecuadas que las de los originales como fue el caso de la oxcarbamazepina (Figura 8)(Targas, 2014).

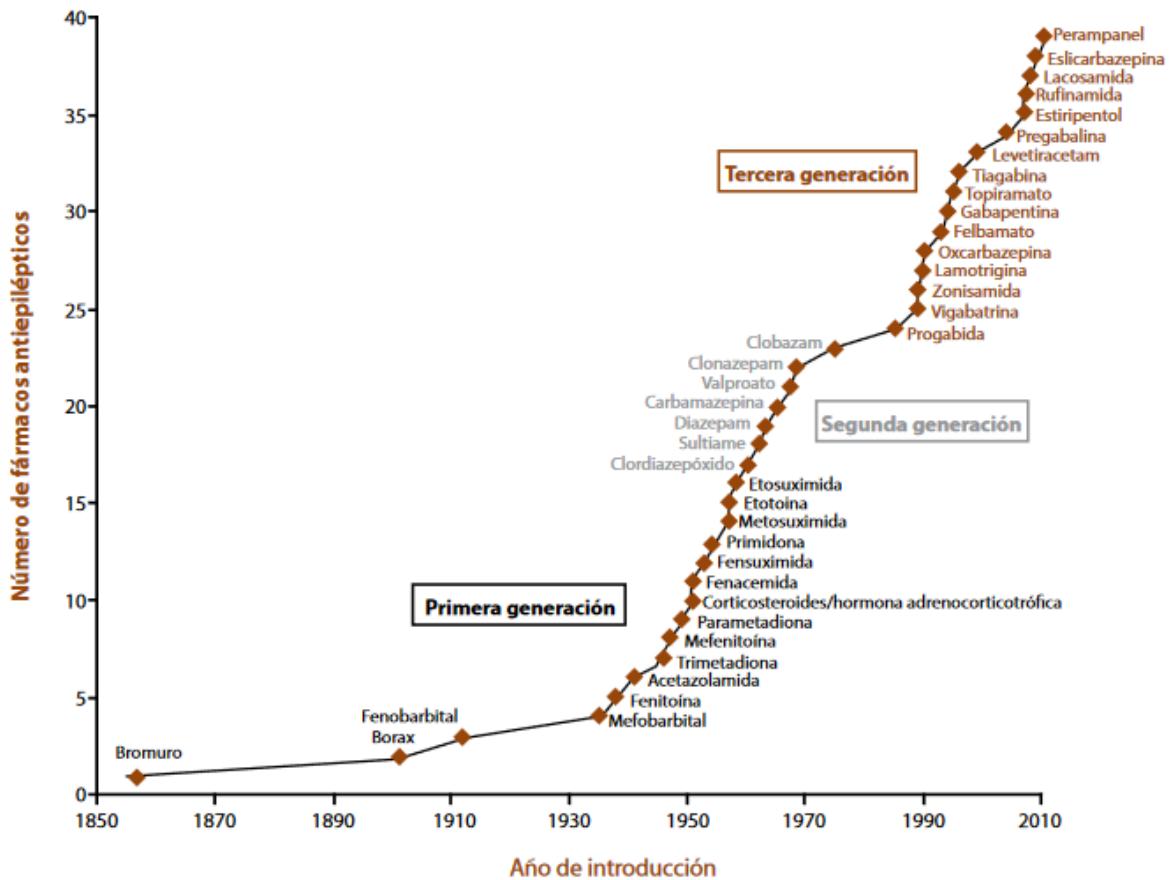


Figura 8. Línea temporal de introducción al mercado de distintos fármacos antiepilépticos. Tomado de Targas, 2014.

La eficacia en la respuesta al tratamiento con FAE depende de una serie de factores entre los que se encuentra la edad del paciente, el tipo de crisis, la frecuencia de las mismas o el tiempo de evolución de la enfermedad previo al inicio del tratamiento, aunque probablemente el mayor factor predictivo sea el tipo de síndrome, siendo algunos como el de West o Dravet o las epilepsias secundarias a malformaciones en el desarrollo cortical de los que se conoce bien su baja responsividad. Se sabe también que las epilepsias con crisis parciales suelen ser más resistentes al tratamiento con FAE que las epilepsias generalizadas idiopáticas (Targas, 2014).

Tratamiento quirúrgico

Aunque se han encontrado cráneos trepanados pertenecientes al Neolítico, en este periodo la epilepsia no era reconocida como un desorden neurológico y es muy probable que estos métodos pretendieran ser más bien intervenciones espirituales debidas a atribuciones supernaturales. La cirugía como tratamiento para la epilepsia en sentido estricto se inició en Europa en la segunda mitad del siglo XIX, después de que Hughlings Jackson correlacionara los fenómenos epilépticos a disfunciones cerebrales y que gracias a esto en 1886 Sir Víctor Horsley realizara la primera neurocirugía para remover el área cortical dañada del cerebro de un paciente epiléptico; por las mismas fechas Fedor Krause comenzaría a operar pacientes epilépticos en Alemania. Originalmente estas primeras operaciones se realizaron para retirar focos corticales, sin embargo con el avance de las investigaciones, la introducción del microscopio de operaciones y nuevos instrumentos de cirugía durante el siglo XX se crearon nuevas técnicas resectivas como la amigdalohipocampectomía y la hemisferotomía funcional; de la misma forma la llegada de la MRI permitió visualizar pequeñas lesiones congénitas a una escala en la que antes eran imposibles de detectar. Actualmente, en cualquier cirugía se cuenta con un grupo de trabajo

multidisciplinario que busca ubicar de forma precisa la zona de inicio ictal para poder retirarla y obtener la mayor probabilidad de libertad de crisis con el menor riesgo de déficit funcional (Schijns, 2015).

La cirugía resectiva adjunta se considera un estándar de tratamiento para un grupo de pacientes propiamente seleccionados con epilepsia parcial farmacorresistente, en la mayoría de los casos epilepsia del lóbulo temporal mesial, tras cuya implementación aproximadamente un 25-30% de los individuos pueden considerarse curados y un porcentaje similar queda libre o casi libre de crisis con un tratamiento farmacológico continuo; en general la mayoría de éstos pacientes, cuyas crisis se originan en un área local, mejoran significativamente cuando el foco o tejido epileptógeno es removido. La aproximación quirúrgica depende de varias consideraciones incluída la localización y extensión de la zona epileptogéna, los hallazgos de MRI y el balance de riesgos-beneficios de la cirugía misma (Elger y Schmidt 2008).

Otros tratamientos

Cuando los FAE fallan en lograr un control sobre las crisis y los pacientes no son candidatos óptimos a cirugía aún pueden considerarse opciones que brinden beneficios terapéuticos, la neuroestimulación en el tratamiento de la epilepsia es una de estas alternativas; se usa este término para referirse a un conjunto de procedimientos que pueden tomar la forma de estimulación nerviosa periférica como la del nervio vago (ENV) o bien de regiones cerebrales propiamente dichas, ya sea que se encuentren directamente involucradas en las crisis como en el caso de la estimulación responsiva de circuitos cerrados (ENR) o regiones que se cree que modulan la actividad de estas, como el tálamo anterior y algunas otras, mediante estimulación cerebral profunda (ECP), (Figura 9), (Bergey y Fisher, 2016).

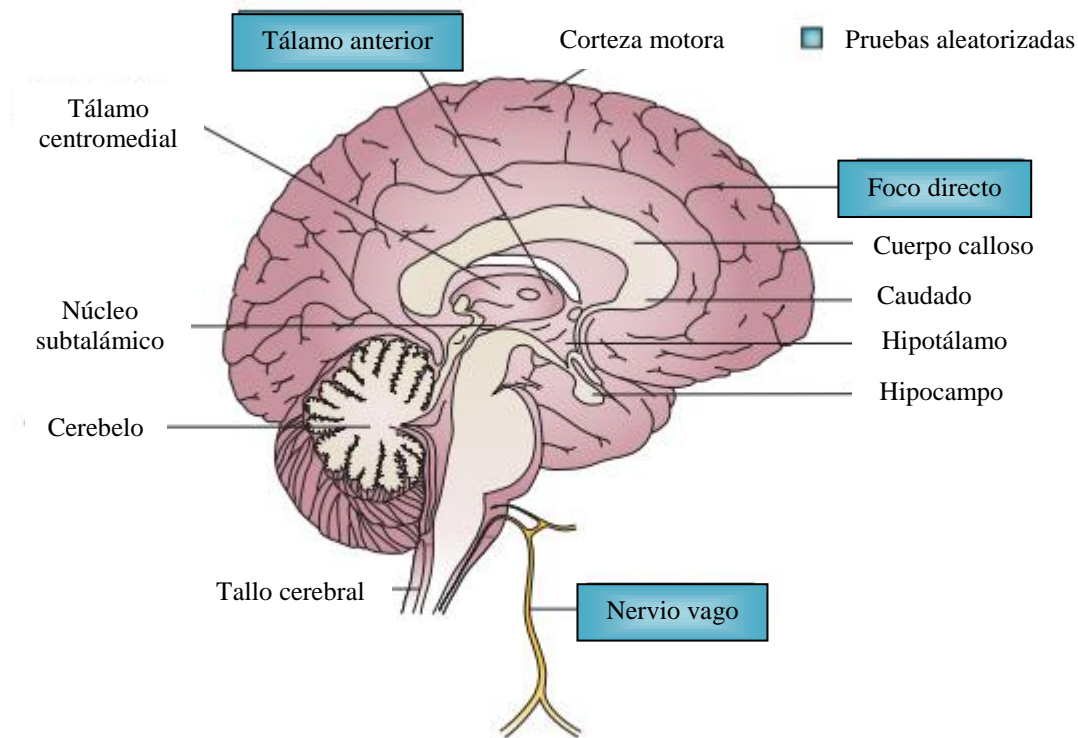


Figura 9. Principales blancos de la estimulación cerebral. En color azul se resaltan aquellas modalidades de estimulación cuya efectividad ha sido comprobada en estudios aleatorizados. Modificado de Fisher y Velasco, 2014.

Por un breve periodo desde su aprobación en 1997 por la FDA, la ENV fue la única modalidad de neuroestimulación disponible en la clínica hasta que en 2013 se sumó la ENR como alternativa terapéutica; la estimulación cerebral profunda del tálamo anterior por su parte se encuentra disponible por ahora en la Unión Europea, Canadá y otros países (Berger y Fisher, 2016). Vale la pena señalar que aunque en los últimos años se ha renovado el interés en evaluar la efectividad de la estimulación cerebral para diversos trastornos, la epilepsia incluida, el éxito relativo de los tratamientos con fármacos en la mayoría de los pacientes ha relegado en cierta medida a las técnicas de estimulación al dominio de la investigación básica (Albert, Cook, Prato y Thomas, 2009).

Todas las modalidades de neuroestimulación comparten el beneficio de no presentar los efectos colaterales propios de los tratamientos con FAE; si bien pueden haber diferencias regionales en el paso de los fármacos a través de la barrera hematoencefálica a la fecha ninguno de ellos está propiamente diseñado para actuar sobre regiones específicas, pudiendo ser esta influencia en la función cerebral global lo que cuenta principalmente para presentar efectos colaterales cognitivos, tóxicos, teratogénicos, etc. En contraste, los métodos de estimulación al ser dirigidos a una región o circuito neuronal específico son capaces de modular los síntomas de una forma ajustable y reversible; no obstante se reconoce que los mecanismos precisos que median sus efectos benéficos en muchos casos aún están por ser elucidados (Bergey y Fisher, 2016; Theodore y Fisher, 2004).

Estimulación del Nervio Vago

Anatomía y fisiología

El Nervio Vago (NV) o nervio neumogástrico es el décimo y más largo de los pares craneales, su nombre deriva del latín vagar en honor a su largo curso desde la médula cerebral hasta el colon, si bien inerva predominantemente los órganos torácicos y abdominales. (Figura 10) El vago es un nervio mixto de funciones complejas parasimpáticas, motoras, y sensoriales; en concordancia con esta diversidad se encuentra involucrado en los sistemas autónomo, cardiovascular, respiratorio, gastrointestinal, inmune y endócrino (Ong y Chong, 2010; Yuan y Silberstein, 2016).

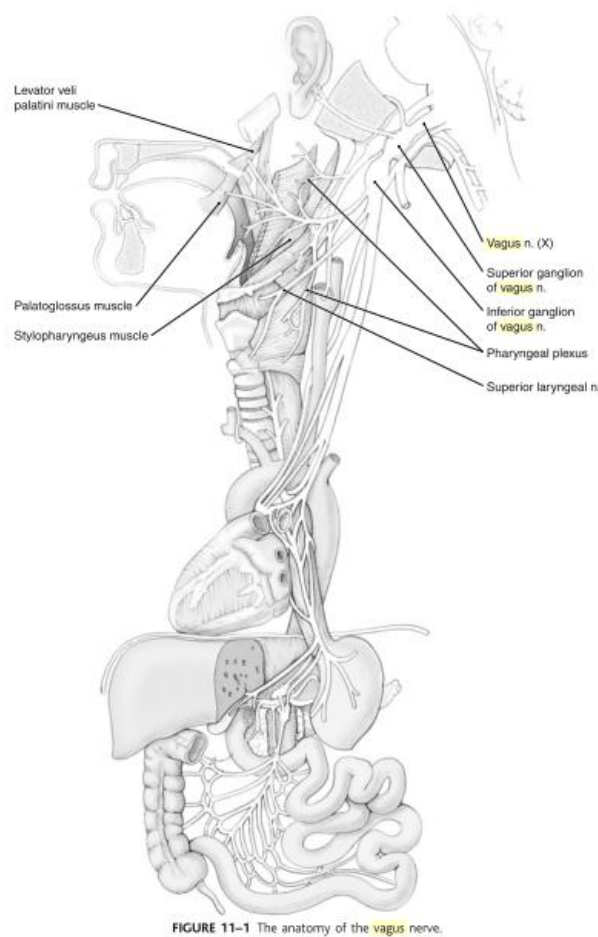


Figura 10. Anatomía del nervio vago. Nótese la amplia inervación hacia la mayor parte de los órganos viscerales. Tomado de Waldman, 2009.

El vago posee dos tipos de fibras eferentes y tres de aferentes sensoriales. Las fibras eferentes del NV surgen del núcleo ambíguo (NA) y del núcleo motor dorsal del vago (NMD), mientras que las aferentes, cuyos somas celulares se encuentran agrupados en el ganglio yugular superior y en el ganglio nodoso inferior, terminan principalmente en el área póstrema (AP), núcleo espinal del nervio trigémino (SNT) y núcleo del tracto solitario (NTS). Aunque es mayormente conocido por las primeras, que inervan el músculo estriado de la laringe y proporcionan control parasimpático del corazón, pulmones y tracto gastrointestinal, aproximadamente el 80% de sus fibras son proyecciones aferentes a través de las que provee información sensorial de una variedad de estímulos interoceptivos incluyendo presión arterial y osmótica, dolor, tensión muscular, temperatura e inflamación; esta información converge en los núcleos enlistados (Tabla 6, Figura 11, flechas morada y azul), desde donde se transmite a múltiples regiones cerebrales o provoca una regulación homeostática (parasimpática) descendente (Amar, Levy, Liu y Apuzzo, 2009; Yuan y Silberstein, 2016).

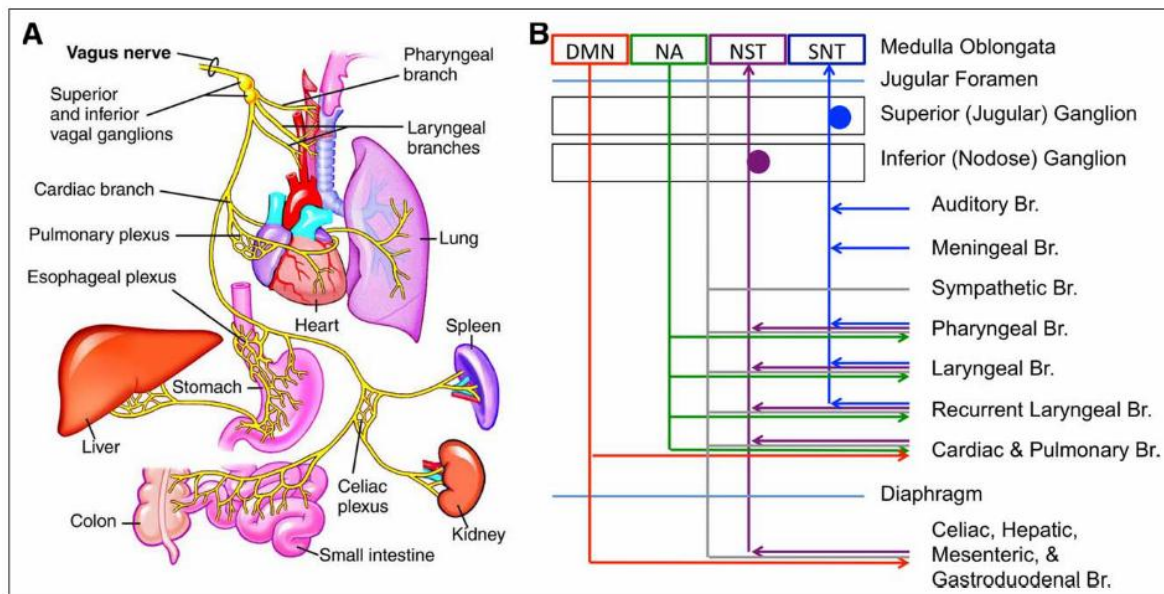


Figura 11. (A) Inervación del nervio vago, (B) proyecciones aferentes y eferentes del nervio vago y sus distintos núcleos de relevo: las flechas naranja y verde representan proyecciones eferentes, las flechas azul y morada representan proyecciones aferentes e incluyen a los ganglios yugular y nodoso. Tomado de Yuan y Silberstein, 2016.

Sus fibras también se han clasificado de acuerdo a su velocidad de conducción, proporcional a su tamaño, y se ha asociado a cada una con un rol fisiológico específico: (1) las fibras mielinadas largas de tipo A llevan información somática aferente y eferente mientras que las pequeñas transmiten principalmente información visceral aferente, (2) las fibras B proveen inervación preganglionar eferente simpática y parasimpática, finalmente (3) las fibras C, no mielinadas, conducen información visceral aferente (Yuan y Silberstein, 2016).

Tabla 6. Núcleos del nervio vago y sus principales funciones

Núcleo	Tipo	Distribución y función en relación al NV
NST	ASG	Sensibilidad somática del meato auditivo externo, membrana timpánica, dura en la fosa posterior, hipofaringe, laringe y esófago superior
NTS rostral	ASV	Sensación de sabor de la epiglotis y faringe
NTS caudal	AVG	Sensación visceral de hipofaringe, laringe, corazón, pulmones, tracto alimenticio, arco aórtico (barorreceptores y quimiorreceptores); también percibe información hormonal y de citocinas
NMD	EVG	Mayoría de los órganos torácicos y abdominales por medio de ganglios parasimpáticos
NA branquiomotor	EVS	Control motor visceral de músculos esqueléticos de la faringe (excepto músculo estilofaríngeo), larínge y esófago superior
NA formación externa	EVG	Ganglios cardiacos para inhibición Ganglios pulmonares para el tamaño de la vía aérea y regulación de secreciones

NST= núcleo espinal del nervio trigémino; NTS= núcleo del tracto solitario; NMD= núcleo motor dorsal del NV; NA= núcleo ambiguo; ASG= aferente somática general; ASV= aferente visceral específica; AVG= aferente visceral general; EVG= eferente visceral general; EVG= eferente visceral específica. Modificado de Yuan y Silberstein, 2016.

Estimulación eléctrica del Vago

La estimulación del NV fue propuesta por primera vez a finales del siglo XIX por el neurólogo americano James Corning, basándose en la hipótesis de que las crisis estaban asociadas a un flujo sanguíneo anormal hacia el cerebro, ya que su acontecimiento se había visto

asociado temporalmente con enrojecimiento facial y palpitaciones de la carótida, aunado a reportes de una reducción de las crisis consecuente a la compresión manual de esta última. Corning diseñó una horquilla (Figura 12) conectada a un par de electrodos para realizar compresión y aplicar estimulación vagal transcutánea con la finalidad de disminuir la frecuencia cardíaca, sin embargo los resultados no fueron exitosos. Fue hasta 1952 que Zanchetti, utilizando una preparación encéphale isolé en gatos, logró demostrar que la estimulación eléctrica directa del NV ejercía un efecto desincronizador global del EEG, provocaba una inhibición de espigas de sueño y era capaz de suprimir la actividad epiléptica causada por la aplicación focal de estriquina; asimismo la preparación experimental constituía la prueba de que los cambios en la actividad cerebral debidos a la ENV no eran mediados por cambios en la presión sanguínea. Por otra parte Magnes estimuló el NTS, primer sitio de relevo de gran parte de las aferentes vagales, y observó una sincronización o desincronización del EEG dependiente de la frecuencia; Zabara demostró que la ENV (20-30 Hz, pulsos de 0.2ms) interrumpía las crisis generadas con estriquina en perros e inducía un periodo inhibitorio prolongado tras haber finalizado ésta; finalmente, mientras que al principio se creía que las fibras tipo C eran responsables del efecto anticrisis de la ENV, estudios posteriores demostraron que en humanos éste dependía principalmente de fibras mielinadas tipo A y B (Ruffoli et al.,2011; Yuan y Silberstein, 2016).

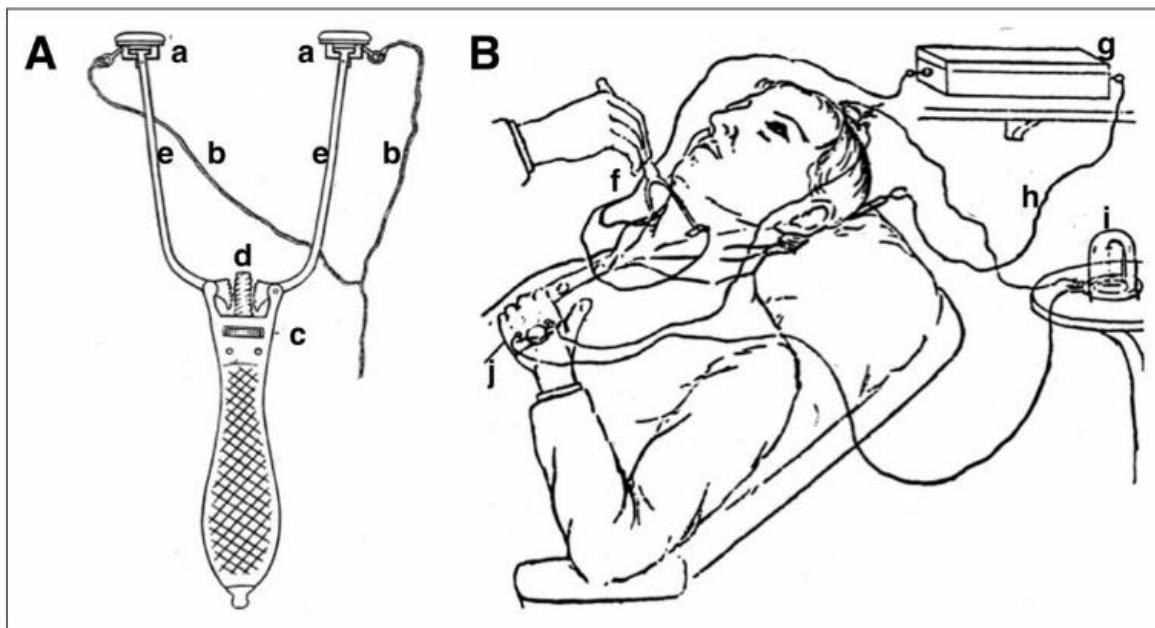


Figura 12. (A) Horquilla para estimulación vagal transcutánea y (B) aplicación de la horquilla conectada a una batería galvánica a un paciente. Tomado de Yuan y Silberstein, 2016.

Tras el éxito demostrado en las investigaciones con animales, a inicios de los 90 se reportaron dos estudios piloto que demostraban una reducción significativa de crisis en pacientes con epilepsia intratable, así como un estudio aleatorizado, doble ciego, en el cual las crisis parciales refractarias de 67 pacientes vieron su frecuencia reducida tras 14 semanas de ENV (Yuan y Silberstein, 2016). La estimulación eléctrica del nervio vago izquierdo (ENV) fue aprobada por la Agencia Europea de Medicamentos en 1994 y por la FDA en Julio de 1997 para su uso como terapia adjunta para reducir la frecuencia de crisis parciales, con o sin generalización secundaria, en personas mayores de 12 años con epilepsia farmacorresistente (Galbarriatu et al., 2015). En 2005 su uso fue aprobado también para el tratamiento de depresión y se investiga su posible utilidad frente a otros trastornos.

La ENV se lleva a cabo mediante un generador de pulsos que entrega estimulación eléctrica intermitente al tronco del nervio vago cervical inferior mediante un electrodo helical; el sistema es puesto a punto de manera no invasiva mediante una barra telemétrica y se incluye un magneto

portátil que los pacientes pueden utilizar para provocar una estimulación preventiva a voluntad o detenerlas temporalmente. El generador tiene el tamaño de un marcapasos, se implanta de forma subcutánea en el pecho y obtiene su energía de una batería de litio con un tiempo medio de vida de 6-10 años, dependiendo de las características de la estimulación; los parámetros óptimos son desconocidos y usualmente se ajustan de manera empírica para cada paciente dentro de ciertos límites aceptados (intensidad de corriente de 0.25-3.5mA, 20-30Hz, 0.25-0.5 ms de ancho de pulso y un ciclo de trabajo de 30-60s ON, 5min OFF). El cable bipolar está aislado en un compuesto de elastómero de silicona y puede ser implantado en pacientes con alergia al látex, además, los componentes helicoidales cuentan con un alambre de platino ajustable que asegura un contacto óptimo con el nervio mientras se evita una compresión excesiva; la examinación histológica del NV ha revelado ausencia de demielinización, pérdida axonal, filtración linfocítica o alguna otra evidencia de daño permanente debido a la estimulación (Figura 13)(Amar et al., 2009).

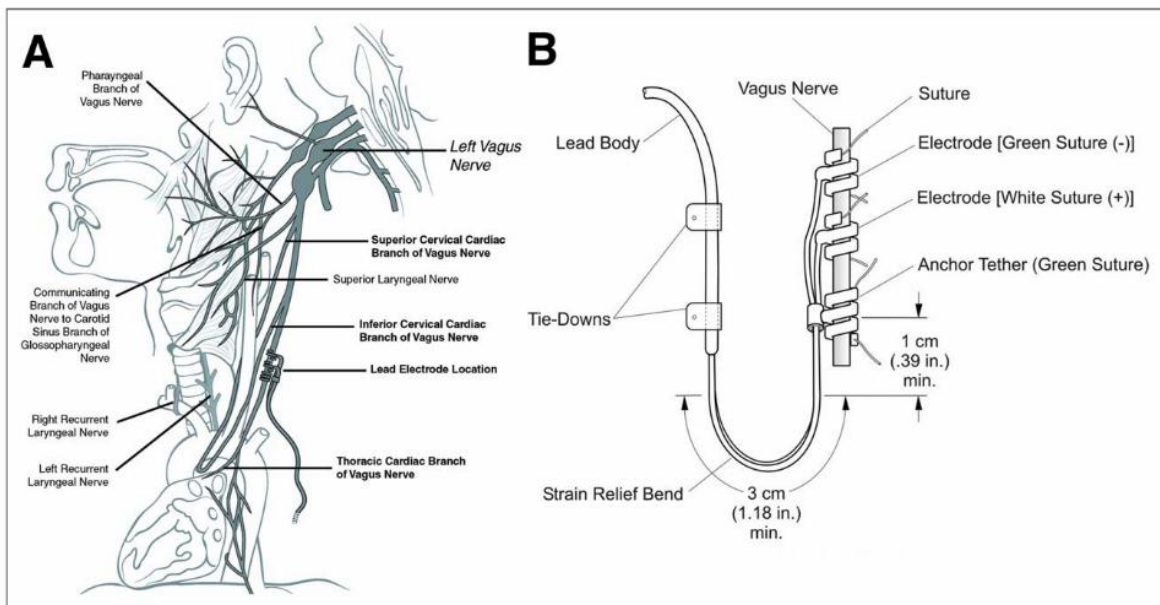


Figura 13. Colocación del electrodos helicoidales para estimulación del Nervio Vago. (A) Posición del implante y (B) colocación de los tres electrodos del estimulador. Tomado de Yuan y Silberstein, 2016.

Solamente 3-6% de los pacientes presentan infecciones post operatorias y la estimulación es bien tolerada en general, de hecho los efectos secundarios reportados suelen presentarse de forma exclusiva durante los periodos ON y se tratan principalmente de alteraciones de la voz; tan solo en un 15-20% de los pacientes hay presencia de tos, ronquera, disnea, parestesia y dolor de cabeza, efectos que suelen responder positivamente a cambios en los parámetros de estimulación, principalmente el ancho de pulso (Theodore y Fisher, 2004).

Al igual que otras terapias la ENV se ha empleado contra tipos de crisis para las que no ha sido aprobada en grandes pruebas clínicas controladas, demostrando resultados positivos. A la fecha se han reportado mejoras significativas gracias a ésta en pacientes con epilepsia relacionada a mutaciones del gen CDKL5 (Baba et al., 2016); con estatus epiléptico refractario (Yazdi y Schumaker, 2016; De Herdt et al., 2009); en niños menores de 3 años con epilepsias de etiologías diversas (Fernández, Gedela, Tamber y Sogawa, 2015), así como durante el embarazo y con implante realizado en NV derecho sin mayores complicaciones (Galbarriatu et al., 2015). Adicionalmente Tecoma e Iragui (2006) reportan que cierto número de estudios le han hallado efectiva en pacientes con crisis generalizadas, idiopáticas o sintomáticas, con una tasa de reducción similar o mayor a la observada ante crisis parciales. En contraste, un grupo heterogéneo con encefalopatías epilépticas no respondió a la ENV (Theodore y Fisher 2004).

A pesar de la eficacia demostrada en la clínica para la disminución de crisis desde hace más de 20 años y de la gran cantidad de estudios realizados en animales no se han demostrado resultados concluyentes sobre los mecanismos precisos mediante los cuales la ENV ejerce su efecto, no obstante existen varias propuestas.

Mecanismos de acción

Al igual que con muchas otras terapias anticonvulsivas, la información sobre los mecanismos que subyacen a la ENV se encuentra significativamente retrasada en comparación con la evidencia de su eficacia clínica. Se ha propuesto que podrían estar involucrados distintos procesos como desincronización de la actividad neuronal, plasticidad hipocampal, efectos anti inflamatorios y modulación de la liberación de distintos neurotransmisores. Mientras que la ENV aplicada de forma aguda puede implicar primordialmente un efecto desincronizador sobre la conducción eléctrica aberrante, de manera crónica es capaz de actuar mediante complejos cambios neuromoduladores. Cunningham, Mifflin, Gould y Frazer (2008) reportaron que la ENV aplicada por 2 horas en ratas activó el NTS, núcleo paraventricular del hipotálamo, núcleo parabraquial, núcleo cama del estriado terminal y LC; mientras que su estimulación por un periodo de 2-3 semanas además de todas estas regiones provocó cambios significativos en la actividad de la corteza del cíngulo, grís periacueductal ventrolateral y NDR, reflejando los posibles sitios de acción de la ENV y un efecto diferencial en la respuesta de las neuronas noradrenérgicas (NE) y serotoninérgicas (5HT) (Yuan, y Silberstein, 2016).

Estudios recientes sugieren que la ENV reduce la susceptibilidad a crisis mediante la modulación de los neurotransmisores 5HT, NE y GABA. Las aferentes vagales terminan en áreas difusas del sistema nervioso central entre los que se incluyen el cerebelo, diencéfalo, amígdala, hipocampo, corteza de la ínsula y múltiples centros del tallo cerebral. Algunas de estas proyecciones relevan por medio del NTS, mientras que otras establecen conexiones monosinápticas directas con sus objetivos y aunque no es claro cuál de estas vías subyace a la eficacia de la ENV, el NDR y el LC parecen ser intermediarios clave dado que su lesión química atenúa o elimina los efectos benéficos de la ENV en modelos animales. El LC es la mayor fuente

de NE en el cerebro de la misma manera que el NDR la de 5HT, se ha reportado el aumento de la actividad de neuronas del LC tras la ENV, así como incrementos de NE en distintas regiones cerebrales, incluido el hipocampo (en donde es un biomarcador potencial para evaluar la eficacia de la ENV en epilepsia del lóbulo temporal). De la misma forma el componente P3 de potenciales evocados refleja la actividad fásica del sistema neuromodulador del LC-NE y es un biomarcador que predice la respuesta de la ENV en la epilepsia. Puesto que el LC, pero no el NDR, recibe proyecciones directas del NTS, la ENV podría actuar inicial y/o predominantemente por medio del primero y de manera indirecta mediante las aferentes de éste al NDR, posiblemente utilizando adrenoreceptores postsinápticos alpha-1, de hecho la lesión selectiva de neuronas NE del LC con toxina DSP 4 previno por completo la activación de las neuronas 5-HT del NDR. Además estos dos neurotransmisores se conocen también por modular el umbral a crisis en algunas partes del cerebro, induciendo a las interneuronas a liberar GABA y conduciendo a una inhibición extensa de la excitabilidad cerebral (Amar et al., 2009; Yuan y Silberstein, 2016).

Sumado a esto, parece que la actividad del LC es crítica en limitar la propagación y duración de las crisis dado que el dañar este núcleo es capaz de convertir crisis esporádicas en EE, efecto aparentemente mediado por su influencia en la excitabilidad cortical mediante modulación de plasticidad sináptica. Giorgi, Pizzanelli, Biagioni, Murri y Fornai (2004) propusieron que el LC juega un rol primordial modulando la expresión de genes relacionados con la plasticidad cerebral en epilepsia; dicha plasticidad podría explicar la extraña ventana de tiempo que existe en la eficacia de la ENV: si se considera que ésta produce una desincronización del EEG dependiente de la estimulación, se esperaría que su capacidad de modular la actividad cortical durara solo

durante el periodo en que es aplicada, sin embargo éste no es el caso pudiendo generar una inhibición sostenida de las crisis a largo plazo.

Otro de los presuntos mecanismos que median la eficacia de la ENV es su efecto sobre la sincronía cortical. El EEG es visto como una herramienta fundamental para determinar el nivel de alerta, el cual se encuentra relacionado con una desincronización del mismo, de hecho la actividad beta (banda de frecuencia de 13-35Hz) es vista como un índice central de arousal. Tanto sincronización como desincronización del EEG están bien documentadas y asociadas a una susceptibilidad o una resistencia incrementada a presentar crisis respectivamente, asimismo algunos estudios han demostrado que la ENV, con los parámetros terapéuticos utilizados, causa una amplia desincronización de la actividad cortical. Magnes, Moruzzi y Pompeiano (1961) demostraron que la estimulación del NTS a frecuencias mayores a 30Hz induce desincronización y a bajas frecuencias (1-17Hz) un efecto opuesto. Piotr et al. (2001) reportaron que la ENV a alta frecuencia (30Hz) está asociada a una supresión de descargas epileptiformes interictales (DEI) y a baja frecuencia (5Hz) con un aumento en su expresión. Thompson et al. (1999) reportaron un incremento en el espectro de actividad gamma del EEG (>40Hz) en regiones corticales y talámicas, estas últimas íntimamente relacionadas al sistema reticular activador ascendente y a la desincronización cortical; de la misma forma Marrosu et al. (2005) se encontraron con una sincronía disminuida en la frecuencia theta (3.5-7.5 Hz) y un aumento en el espectro de potencia de gamma (20-50Hz). Además, de acuerdo a observaciones clínicas, la alerta mejorada parece ser un efecto inherente de la ENV (Jaseja, 2010).

Pocos estudios han evaluado el efecto de la ENV en la conectividad funcional (CF), una forma de estudiar cómo distintas regiones cerebrales coordinan sus actividades. Por medio de cortico EEG Fraschini et al. (2013) demostraron una marcada disminución en la CF de la banda

gamma tras varios meses de ENV; Bartolomei et al. (2016), utilizando electrodos intracerebrales en pacientes sometidos a evaluación prequirúrgica invasiva y que ya utilizaban un dispositivo para ENV, observaron una disminución en la CF entre distintas regiones cerebrales en los pacientes respondientes, así como que los valores de ésta eran mínimos durante los periodos ON de estimulación; en pacientes no respondientes no hubo una disminución significativa en la CF.

JUSTIFICACIÓN

Planteamiento del problema

La epilepsia, caracterizada por una predisposición recurrente a generar crisis debidas a una hipersincronización y sobreexcitación de grupos neuronales, es uno de los padecimientos más comunes del sistema nervioso; las cifras sobre su prevalencia se sitúan en un estimado de entre 50 y 60 millones de pacientes, existiendo una mayor proporción de ellos en países en vías de desarrollo tal como es el caso de México. Aunque más de la mitad de los pacientes que son diagnosticados con la enfermedad presenta una buena respuesta al tratamiento de primera mano con fármacos antiepilépticos, el resto de ellos continúa sufriendo de crisis epilépticas o no muestra una reducción significativa de las mismas. La epilepsia es considerada además una enfermedad altamente incapacitante y los pacientes cuyas crisis no son exitosamente controladas sufren graves repercusiones en su calidad de vida así como de un, hasta la fecha existente, estigma social propio de muchas enfermedades en las que se encuentra involucrado el sistema nervioso. Por su parte los procedimientos quirúrgicos son una alternativa adecuada tan sólo para un pequeño grupo de pacientes y el riesgo de presentar efectos secundarios se encuentra siempre presente. Afortunadamente existen otras alternativas de tratamiento como la estimulación de estructuras del sistema nervioso directamente involucradas en la expresión de crisis o bien capaces de modular la actividad epiléptica de forma indirecta.

La Estimulación eléctrica del Nervio Vago (ENV) es una alternativa aprobada por la FDA y la Agencia Europea de Medicamentos desde finales del siglo pasado para el tratamiento de las crisis parciales, con o sin generalización secundaria. Si bien su eficacia clínica al frenar éste y otros tipos de crisis está bien documentada y a pesar de que existe una gran cantidad de investigación básica respecto a los posibles mecanismos que median dicha eficacia, a la fecha no se ha brindado una explicación concluyente sobre éstos. Se ha propuesto que uno de dichos

mecanismos podría estar mediado por un efecto desincronizador global de la actividad cortical; de hecho se ha visto que su estimulación es capaz de aumentar la potencia de la banda de frecuencia gamma, característica de un EEG desincronizado, así como disminuir la potencia de la actividad theta, indicadora de una condición opuesta. Menos estudiado aún ha sido otro índice de desincronización: la conectividad funcional medida entre distintos sitios en el cerebro y el cual constituye un indicador del grado en que éstos coordinan sus patrones de activación.

En el presente trabajo se aplicó estimulación eléctrica al Núcleo del Tracto Solitario (NTS), el primer sitio de relevo de la mayoría de las aferentes vagales hacia el cerebro, seguido de un análisis de la potencia espectral así como de la coherencia cortical interhemisférica. Se utilizó además un modelo químico de inducción de crisis generalizadas, la administración sistémica del antagonista gabaérgico Pentilinetetrazol, con el fin de poner a prueba los efectos protectores esperados ante la estimulación realizada.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Determinar si la estimulación eléctrica del NTS es capaz de generar un efecto desincronizador de la actividad eléctrica intercortical y si éste último es un modulador potencial de las crisis convulsivas generalizadas provocadas con el modelo químico de Pentilenetetrazol .

Objetivos específicos

Evaluar los cambios que se presentan ante la estimulación eléctrica del NTS en la potencia espectral de cinco bandas de frecuencia en cada uno de los sitios corticales registrados.

Evaluar los cambios en la coherencia cortical interhemisférica entre los pares de regiones corticales registradas de manera bilateral ante la estimulación eléctrica del NTS para cada una de las bandas de frecuencia determinadas.

Probar la eficacia supuesta de la ENTS para modular crisis generalizadas contra un modelo quimioconvulsivo.

Hipótesis

La estimulación eléctrica del Núcleo del Tracto Solitario (ENTS) provocará una disminución de la potencia espectral de las bandas de bajas frecuencias así como un aumento de la potencia en aquellas de altas frecuencias (alfa, beta, gama).

La ENTS generará una desincronización de la actividad eléctrica cortical interhemisférica medida en dos distintas zonas de corteza.

La ENTS disminuirá la expresión de crisis generalizadas causadas por la administración de PTZ.

MATERIAL Y MÉTODOS

Materiales

Animales

Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa Wistar con un peso de entre 280 y 320 gramos, fueron conservadas en cajas de acrílico en grupos de 5 y de manera individual después de la cirugía de implantación de electrodos; se mantuvieron en condiciones controladas, en un ciclo invertido de luz/oscuridad (periodos de 12 horas), con libertad de movimiento y acceso ad libitum a agua y alimento en el bioterio de la Dirección de Neurociencias del INPRFM hasta el momento de los experimentos. Todos los procedimientos realizados con animales fueron llevados a cabo con la aprobación del comité de ética del INPRFM y de acuerdo a las especificaciones de la norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO-1999) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Electrodos

Los electrodos para registro y estimulación fueron elaborados con alambre de acero inoxidable con un diámetro de 500 μm , recubierto de una capa aislante y con distintas medidas de largo dependiendo de la estructura a la que fueran dirigidos. Los electrodos fueron afilados en punta en un extremo y soldados a alambre flexible por el otro, de tal manera que éste último pudiera ser manipulado después de implantar el electrodo en su sitio y ser soldado a un conector macho tipo pin header.

Fármacos

Todos los fármacos utilizados fueron obtenidos del Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación, perteneciente a la Dirección de Neurociencias del INPRFM. Un listado de los principales fármacos y reactivos incluye:

- Ketamina (Anesket), 1000mg/10 ml, Pisa Agropecuarius S.A. de C.V.
- Hidrocloruro de Xilacina, (Sigma) 20mg/1ml, preparado en el laboratorio
- Penthall (Pentobarbital sódico) INVET S.A.
- Nictone (Acrílico de polímero metil metacrilato, transparente) MDC dental S.A. de C.V.
- Nictone (Monómero Termocurable y Autocurable) MDC dental S.A. de C.V.
- Buffer de Fosfatos
- Paraformaldehído
- Pentilenetetrazol, 1,5-Pentamethylenetetrazole, Sigma Chemical Company

Equipo utilizado en la cirugía

- Aparato estereotáxico David Kopf: plancha, equipo para restringir el movimiento de las ratas y torres estereotáxicas con Vernier integrado
- Taladro dental de baja velocidad, modelo 21b, FOREDOM ELECTRIC CO.
- Fresas para taladro dental de distintos calibres
- Instrumental quirúrgico

Equipo utilizado en el registro EEG y estimulación

- Polígrafo Grass 78 con Amplificadores PK511, Grass Instruments, Astro-Med Inc. Massachussets

- Estimulador Grass S88, Grass Instruments, Astro-Med Inc. Massachussets
- Controlador externo de la frecuencia de estimulación.
- Unidad de aislamiento PSIU6, Grass Instruments, Astro-Med Inc. Massachussets
- Tablero para mini electrodos IGMEB-INT36, Grass Instruments, Astro-Med Inc. Massachussets
- Convertidor de señal analógica-digital, ADQCH8
- Software para registro de señales digitales ADQCH8

Equipo y reactivos utilizados para histologías

- Vibrátomo, Series 1000 Sectioning system
- Tinción Violeta de Cresyl
- Alcohol
- Xileno ACS, MEQUIM S.A.
- Potraobjetos y cubreobjetos
- Entellan, Merck Millipore

Varios

- Spongostan, Johnson&Johnson medical S.A de C.V.
- Cera de hueso Ethicon, Johnson&Johnson medical S.A de C.V.
- Jeringas estériles de distintos volúmenes
- Solución salina
- Gasa
- Rasuradora eléctrica
- Barniz de impregnación DuPont México S.A. de C.V.

- Cajas de Petri
- Cotonetes
- Equipo para soldar
- Horno Blue Electric
- Papel filtro
- Báscula para roedores OHAUS

Métodos

Cirugía para implante de electrodos

Previo a la cirugía las ratas fueron pesadas y anestesiadas con una mezcla de Xilacina-Ketamina en una concentración de 0.65/0.87 mg/kg de peso. Una vez anestesiados, los animales fueron montados en la plancha y con ayuda del equipo estereotáxico se implantaron electrodos de registro de manera bilateral en las cortezas prelímbica (4.2 AP, 0.6 ML, -3.8 DV) y motora (1.2 AP, 2.4 ML, -2.0 DV) de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (2007). Se colocaron también sobre el cráneo cuatro tornillos para brindar una mayor duración al conjunto del implante, además de que dos de ellos que fueron colocados sobre el cerebelo de manera bilateral funcionarían como electrodo de referencia para cada una de las cortezas implantadas en su respectivo hemisferio; se implantó además un electrodo bipolar para estimulación del NTS (-11.9 AP, 1.0 ML, -7.9 DV). Cada uno de los electrodos fue soldado a un conector macho tipo pin header, con excepción del electrodo de NTS el cual se encontraba soldado a un conector aparte desde su fabricación inicial; el montaje fue cubierto en su totalidad con acrílico dental dejando un pequeño casco sobre el cráneo de la rata. Previo al comienzo de los registros y experimentos

se les brindó a las ratas un periodo de recuperación postoperatorio de una semana en cajas individuales de acrílico.

Grupos experimentales

Se formaron tres grupos experimentales con una n=8 para cada uno.

Control: A las ratas de este grupo les fue realizado el implante de electrodos para registro de cortezas, sin embargo no se implantó el electrodo de estimulación de NTS. Se llevó a cabo un registro continuo diario por tres horas y al finalizar los 5 días de registro se implementó el protocolo de administración de PTZ.

ENTS: Se les realizó el implante de electrodos para registro de cortezas así como para estimulación del NTS. Las ratas fueron registradas por tres horas diarias durante cinco días, aplicando los 10 trenes de estimulación eléctrica al NTS durante la segunda hora. Al finalizar el registro del quinto día les fue realizado el protocolo de administración de PTZ.

Sham: A las ratas se les realizó tanto el implante de electrodos de corteza como del electrodo de estimulación del NTS, sin embargo éste último no fue estimulado en ningún momento; se les realizó un registro diario de cortezas durante una hora.

Registro electrográfico

Un día antes del inicio de los registros se obtuvo el umbral de estimulación del NTS, comenzando con una intensidad inicial de 50 μA y aumentando en pasos de 10 μA cada 5 minutos, el límite superior de estimulación se fijó en 150 μA y las conductas de masticación y polipnea fueron determinadas como indicadoras de una estimulación exitosa. Al día siguiente se comenzó un registro electrográfico referencial de cada una de las cortezas implantadas así como

un registro bipolar del NTS. El registro se realizó por un periodo de 3 horas diarias por 5 días consecutivos, consistiendo en las siguientes condiciones cada día: 1 hora de registro de línea base, 1 hora de registro de cortezas pareadas con estimulación eléctrica del NTS, 1 hora de registro post-estimulación.

La actividad fue registrada a una frecuencia de muestreo de 1000 Hz, la señal amplificada pasó por un sistema de conversión analógico/digital y fue almacenada en el disco duro de un ordenador de escritorio para su posterior análisis.

Estimulación del NTS

Se aplicó estimulación eléctrica al NTS con ayuda de un estimulador Grass S88, configurado mediante un controlador externo de la señal para entregar trenes fijos de estimulación a intervalos regulares, brindando un ciclo de trabajo de 30 segundos ON y 5 minutos OFF (30 Hz, 50-150 μ A, ancho de pulso 0.5 ms). La estimulación eléctrica fue realizada durante la segunda hora de registro diario durante la cual se entregaron 10 trenes fijos con los parámetros mencionados.

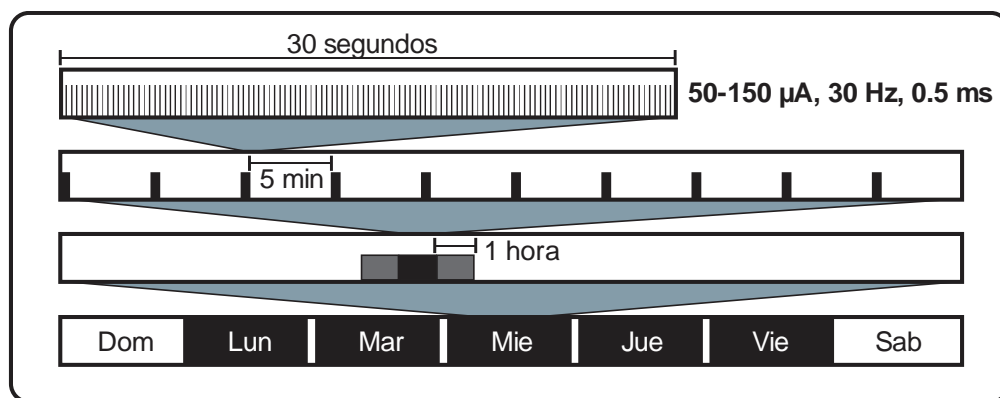


Figura 14. Parámetros de estimulación eléctrica aplicada al NTS. Cada barra horizontal representa la ampliación de un segmento de tiempo de la barra inferior inmediata. En color negro se muestran los momentos efectivos de estimulación: pulsos por segundo para la primera barra, segmentos de 30 segundos cada 5 minutos para la segunda barra, la segunda hora de estimulación de las tres horas de registro en la tercera y cinco días a la semana, de Lunes a Viernes para la última.

Administración de PTZ

Al finalizar los 5 días de registro y estimulación se procedió a la administración de Pentilene-tetrazol vía intraperitoneal, siguiendo el protocolo de Lutjohann et al. (2009); en breve, se realizó una administración inicial de 20 mg/kg i.p y posteriores administraciones sucesivas cada 15 minutos de 10 mg/kg i.p. hasta que la rata presentara una crisis continua por más de 5 minutos, considerada como estatus epiléptico, o muriera por intoxicación por las dosis sucesivas de PTZ. Esta forma de administrar el fármaco permitió observar la progresión de distintos componentes del espectro conductual de las crisis generalizadas, incluyendo crisis de ausencia, crisis clónicas y tónico-clónicas, así como de componentes electrográficos. Las ratas que alcanzaban estatus epiléptico fueron inyectadas con una sobredosis de pentobarbital sódico para frenar las crisis y posteriormente fueron perfundidas. Se contabilizó la duración y el número de crisis tónicas y tónico-clónicas, así como la latencia desde la primera inyección de PTZ a la aparición de cualquiera de estos dos tipos de crisis; adicionalmente se determinó si las ratas habían entrado en estatus epiléptico y la duración del mismo.

Perfusión e Histología

Al finalizar su respectivo experimento, los animales de todos los grupos fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico i.p.; se procedió a realizar una perfusión intracardiaca a través del ventrículo izquierdo con buffer de fosfatos y paraformaldehído, con el fin de limpiar el sistema circulatorio y fijar el tejido cerebral respectivamente. Inmediatamente se removió el cerebro retirando el casco implantado y la parte superior del cráneo. El cerebro fue extraído mediante dos cortes coronales a la altura de bulbos olfatorios y la parte más caudal del tallo cerebral, cortando además los nervios craneales de la zona basal; a continuación fue colocado en

un frasco de vidrio con paraformaldehído y almacenado en refrigeración hasta el momento de realizar la histología.

Para realizar los cortes histológicos, el cerebro fue separado de la médula y cerebelo y, utilizando un vibrátomo, se realizaron cortes coronales de 60 μm en los distintos sitios a los que se habían dirigido los electrodos implantados en cortezas; se obtuvieron además cortes sagitales de la zona de la médula y cerebelo para localizar la trayectoria del electrodo de NTS. Se realizaron entre 6 y 8 cortes por cada sitio y fueron colocados en un portaobjetos individual, se les sometió a tinción con violeta de cresyl para después ser protegidos usando una capa delgada de Entellan y tapados con un cubreobjetos. Los cortes montados fueron escaneados, digitalizados y, con ayuda del software ChaosCrystal, se contrastaron con su respectiva lámina del atlas estereotáxico, verificando que las puntas de los electrodos coincidieran con la estructura a la que se planeó dirigirlas.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la potencia espectral y se compararon los valores de los grupos Control, SHAM y ENTS para cada una de las 3 horas de registro: LB=línea base, E=estimulación y PE=post estimulación. La distribución normal de los datos fue comprobada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, así como la homogeneidad de varianzas; se procedió a aplicar la prueba ANOVA de un factor, seguida por las post hoc de Scheffé o Games Howell según fuera pertinente, todo esto con un nivel de significancia de $p < 0.05$, para cada banda de potencia previamente delimitada: delta (0.2-4.5 Hz), teta (5-10 Hz), alfa (11-14 Hz), beta (15-20 Hz) y gama (21-50 Hz).

En el grupo ENTS se analizó también el porcentaje de cambio de la coherencia cortical interhemisférica de cada día, utilizando los valores de cada uno de los minutos posteriores a las estimulaciones del NTS, determinando como medida inicial ó 100% los valores de un muestreo similar de 10 periodos de 1 minuto tomados de la primera hora de registro del día 1, previo a cualquier estimulación. Se utilizó la prueba ANOVA de medidas repetidas, con una post hoc de Bonferroni y un nivel de significancia de $p < 0.05$, para cada una de las mismas bandas de frecuencia delimitadas para el análisis de potencia.

Finalmente, para los grupos Control y ENTS se contabilizó el número de crisis tónicas y tónico-clónicas, duración de cada una de ellas y latencia a la aparición de la primera crisis durante el protocolo de administración de PTZ, así como si los animales entraban en Estatus Epilepticus y la duración promedio del mismo para cada grupo. Se utilizó la prueba T de Student para muestras independientes para comparar los valores de cada una de estas variables con excepción de la presencia/ausencia de Estatus epilépticus. Dado que los lineamientos del protocolo de administración de PTZ dictaban que una vez que el animal entrara en EE se le administraría una inyección de Pentobarbital sódico y se procedería a su perfusión, los animales sólo podían presentar ya fuera uno o ningún EE durante todo el protocolo. Por lo tanto los datos fueron tratados como variables nominales y puesto que se trataba de una n pequeña se utilizó el estadístico exacto de Fisher para su comparación. En todos los casos se utilizó un nivel de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS

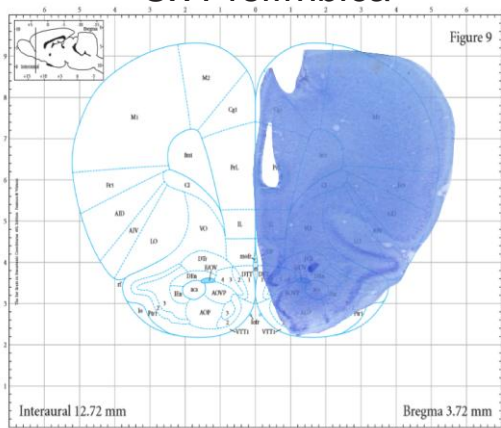
Verificación histológica del implante

El análisis histológico reveló los sitios de registro y estimulación para cada uno de los electrodos implantados. Los datos de las ratas cuyo electrodo de estimulación fue exitosamente implantado en el NTS fueron incluidas dentro de los respectivos análisis estadísticos. La mayoría de los electrodos de las ratas del grupo SHAM se encontraban en el NTS o en sitios aledaños. En algunos casos, aunque el electrodo de estimulación fue implantado correctamente, alguno de los electrodos de registro cortical se encontraba dañado o no brindaba un buen registro. En estos casos los animales no fueron descartados pero se consideró para el análisis de coherencia interhemisférica tan solo a los registros de pares de electrodos corticales exitosamente implantados. Los registros de los pares incompletos fueron incluidos de manera normal en el análisis de potencia espectral.

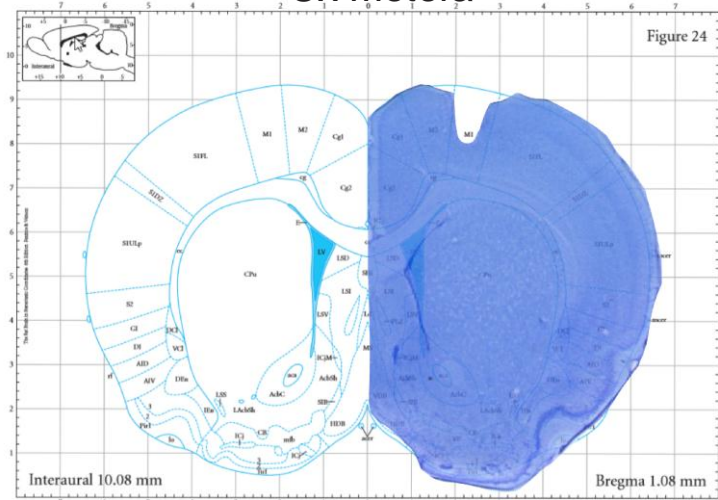
Figura 15. Verificación histológica.

(Siguiente página.) Cortes de 60 μm de grosor, sometidos a tinción de Nissl y contrastados contra tres láminas del atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (2015); dos cortes coronales realizados a una medida de 3.72 mm y 1.08 mm respecto a Bregma y un corte sagital realizado a 1.13 mm laterales desde la línea media del cráneo, mostrando los trazos de los electrodos implantados en corteza prelímbica (PrL), corteza motora primaria (M1) y núcleo del tracto solitario (Sol), respectivamente. Las dos líneas verticales en el corte sagital de la tercera figura representan la altura a la que fueron realizados los primeros dos cortes coronales.

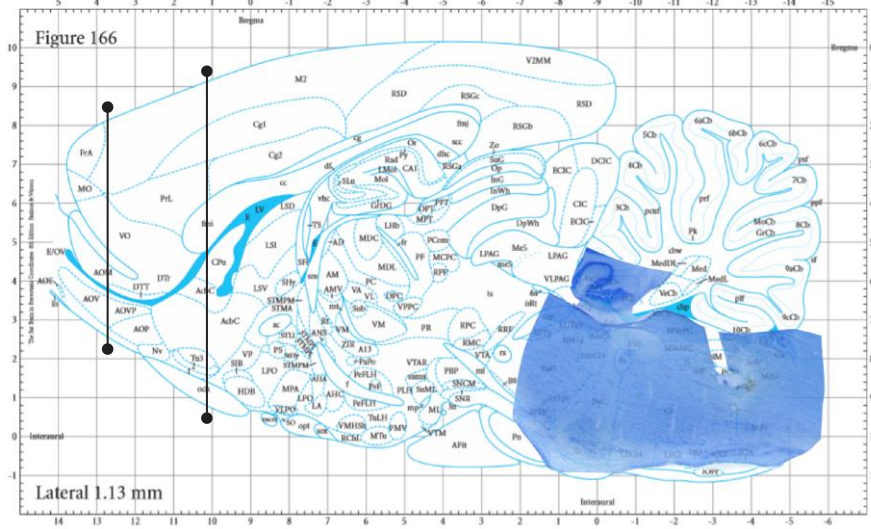
Cx Prelimbica



Cx Motora



NTS



Análisis de potencia espectral

Se observó un incremento de la potencia en ambos hemisferios con efecto diferencial ya fuera que se tratase de corteza prelámbica o motora por una parte, o bien corteza ipsilateral o contralateral al sitio de estimulación. Se observó un incremento en la potencia espectral durante la hora de estimulación para el grupo ENTS en las bandas delta ($F=5.105$, $p<0.05$), teta ($F=4.608$, $p<0.05$), alfa ($F=12.619$, $p<0.05$) y beta ($F=26.404$, $p<0.05$) en la corteza prelámbica ipsilateral al sitio de estimulación (Figura 16); de la misma manera se observó un aumento de la potencia en estas mismas bandas de frecuencia en la corteza prelámbica contralateral al sitio de estimulación: delta ($F=4.966$, $p<0.05$), teta ($F=4.289$, $p<0.05$), alfa ($F=4.174$, $p<0.05$) y beta ($F=8.30$, $p<0.05$) (Figura 18). Adicionalmente, en el caso de la corteza prelámbica izquierda se obtuvo un decremento significativo en la potencia de la banda gama ($F=4.246$, $p<0.05$) para el grupo ENTS durante la hora posterior a la estimulación. Adicional a los cambios en potencia del grupo ENTS comparado contra Control, el grupo SHAM también presentó diferencias significativas comparado contra el último en la banda beta ($F=7.318$, $p<0.05$) durante las tres horas de registro, sugiriendo un posible efecto en la potencia debido a la presencia del electrodo implantado en el NTS. (Figura 16) En el caso de la corteza prelámbica izquierda fue encontrado un incremento en la potencia de tres bandas en la hora correspondiente a la línea base, posiblemente debido a que los valores de cada día de estimulación fueron promediados por condición, por lo que el valor de LB del día 2 poseía el efecto residual de la hora de estimulación del día 1 y así sucesivamente para los siguientes días. Cabe destacar que en la mayoría de los casos en los que existía un aumento de la potencia durante la hora de estimulación, éste también se encontraba presente durante PE.

En el caso de la corteza motora izquierda, ipsilateral al sitio de estimulación (Figura 17), se obtuvo un incremento en la potencia del grupo ENTS, comparado contra control para las bandas alfa ($F=7.271$, $p<0.05$) y beta ($F=13.138$, $p<0.05$); presentando además un efecto residual similar al de la corteza prefrontal izquierda, viéndose reflejado éste en los valores de potencia de dos bandas durante la línea base, así como un incremento de los valores de beta ($F=13.138$, $p<0.05$) en el grupo SHAM comparado contra Control. Finalmente, en cuanto a la corteza motora derecha (Figura 19), se observó un incremento en la potencia de las bandas delta ($F=16.260$, $p<0.05$), teta ($F=8.339$, $p<0.05$), alfa ($F=12.096$, $p<0.05$) y beta ($F=20.207$, $p<0.05$) en el grupo ENTS, acompañados por los mismos incrementos ya mencionados durante LB y PE; ésta fue la corteza en la que más se presentaron incrementos en la potencia del grupo SHAM comparado contra Control.

Corteza Prelímbica izquierda

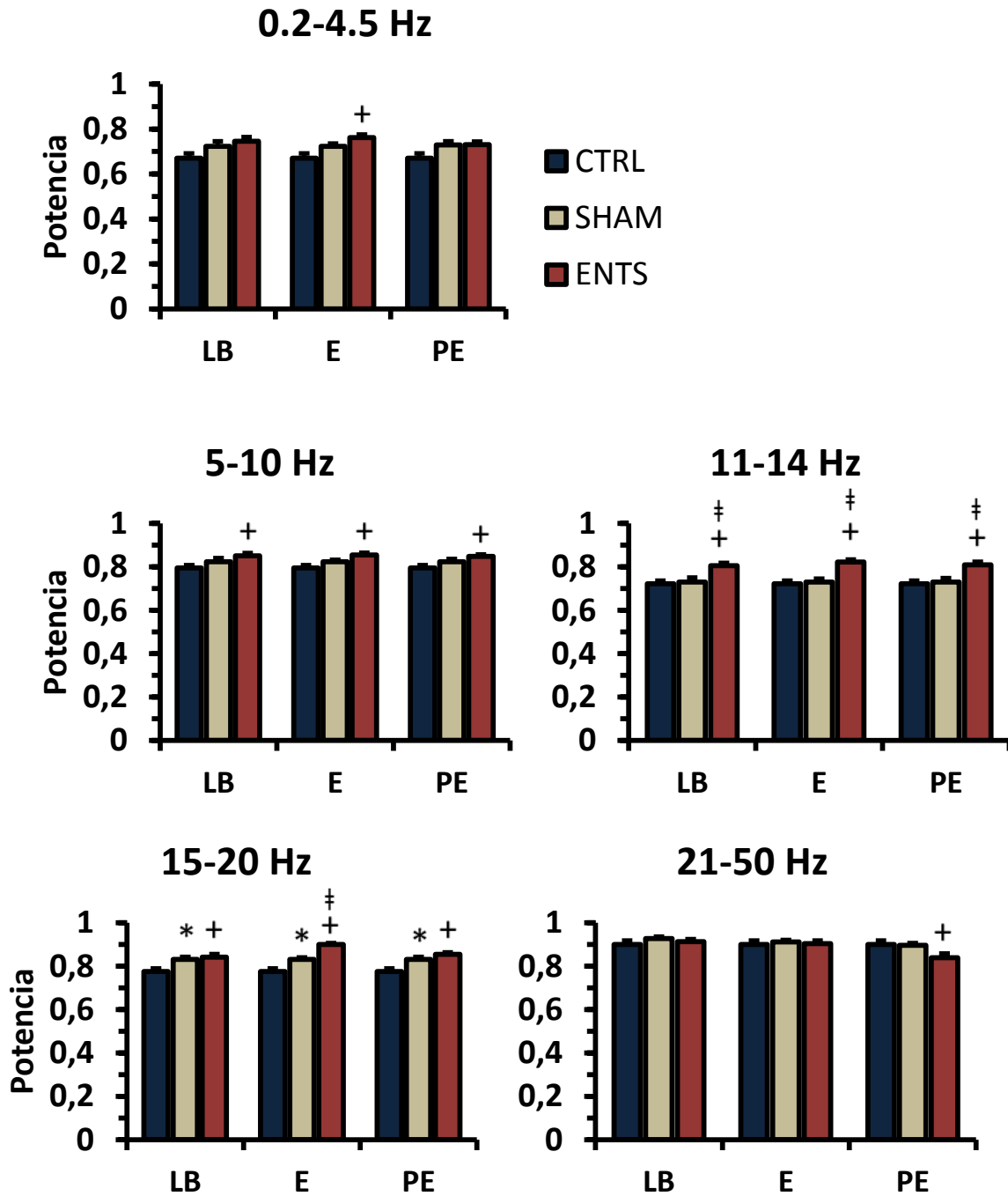


Figura 16. Cambios en la potencia espectral en la corteza prelímbica izquierda para las 5 bandas de frecuencia delimitadas. Cambios significativos del grupo ENTS comparado contra control(+), SHAM vs control(*) y ENTS vs SHAM (‡). $p < 0.05$. Nótese que la mayor parte de las bandas de frecuencia del grupo ENTS (rojo) presentan un aumento en la potencia en la hora posterior a la estimulación (PE). Este aumento también se ve reflejado en LB.

Corteza Motora Izquierda

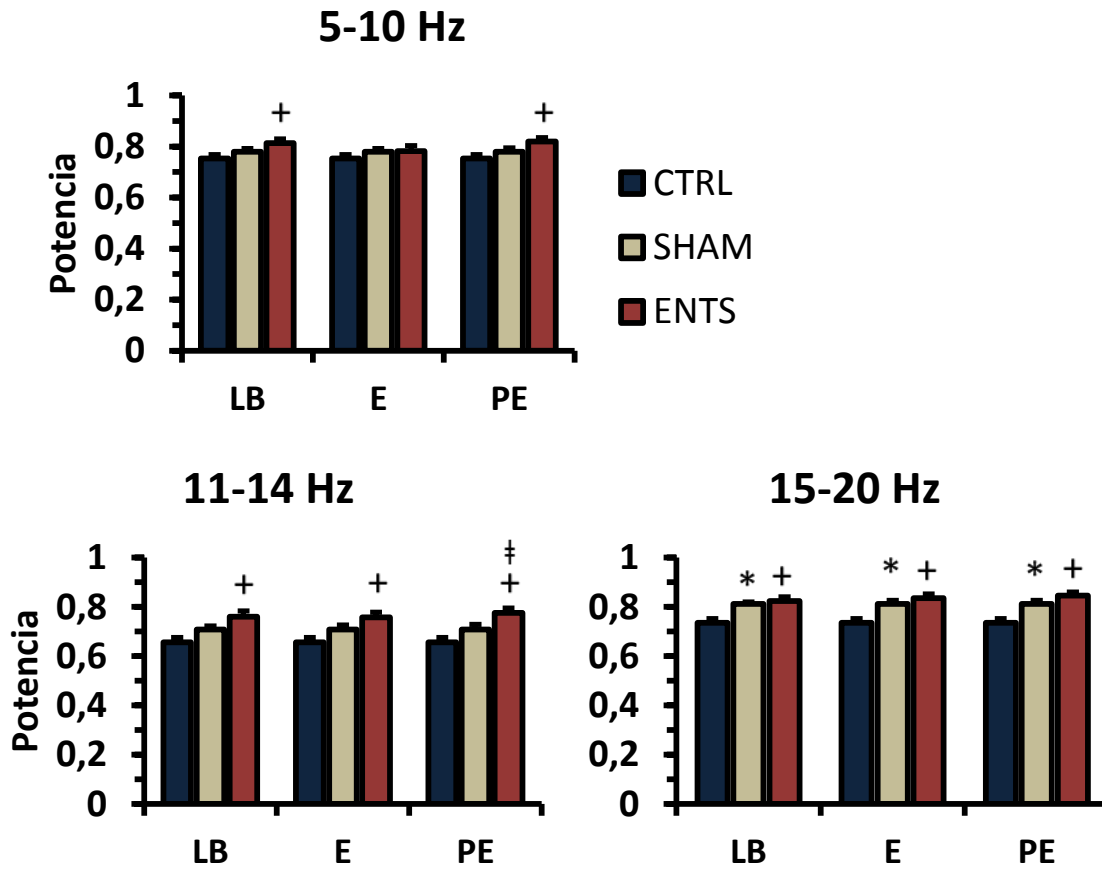


Figura 17. Cambios en la potencia espectral en la corteza motora izquierda para 3 bandas de frecuencia. Cambios significativos del grupo ENTS comparado contra control(+), SHAM vs control(*) y ENTS vs SHAM (‡). $p < 0.05$. Nótese que las tres bandas de frecuencia del grupo ENTS (rojo) presentan un aumento en la potencia en la hora posterior a la estimulación, dicho aumento también se ve reflejado como un efecto residual en la medición de LB. El Grupo SHAM (arena) presentó un aumento sostenido para la banda de 15-20 Hz.

Corteza Prelímbica Derecha

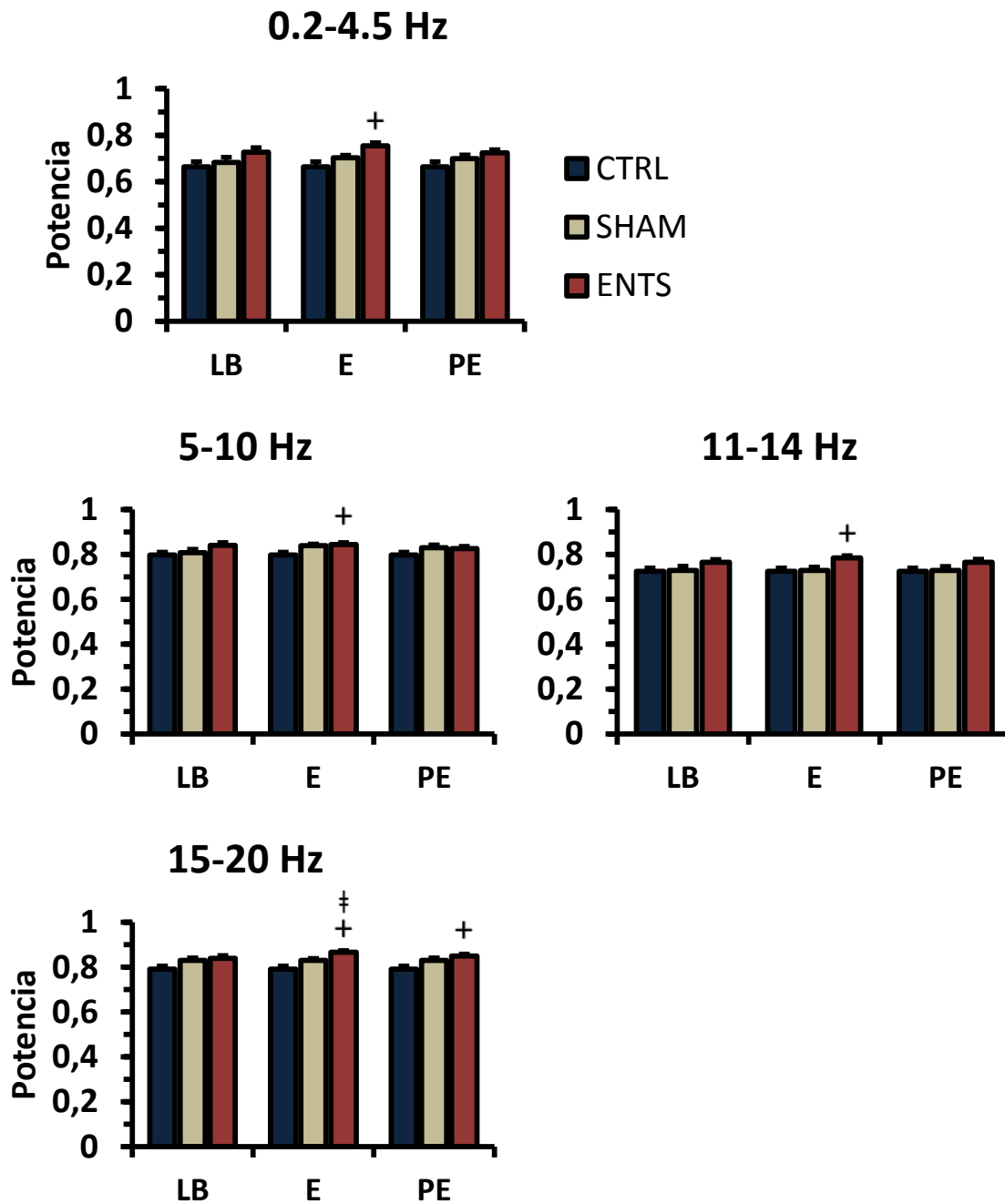


Figura 18. Cambios en la potencia espectral en la corteza prelímbica derecha para 4 bandas de frecuencia. Cambios significativos del grupo ENTS comparado contra control(+) y ENTS vs SHAM (‡). $p < 0.05$ El aumento en potencia para el grupo ENTS es observable sólo durante la hora de estimulación.

Corteza Motora Derecha

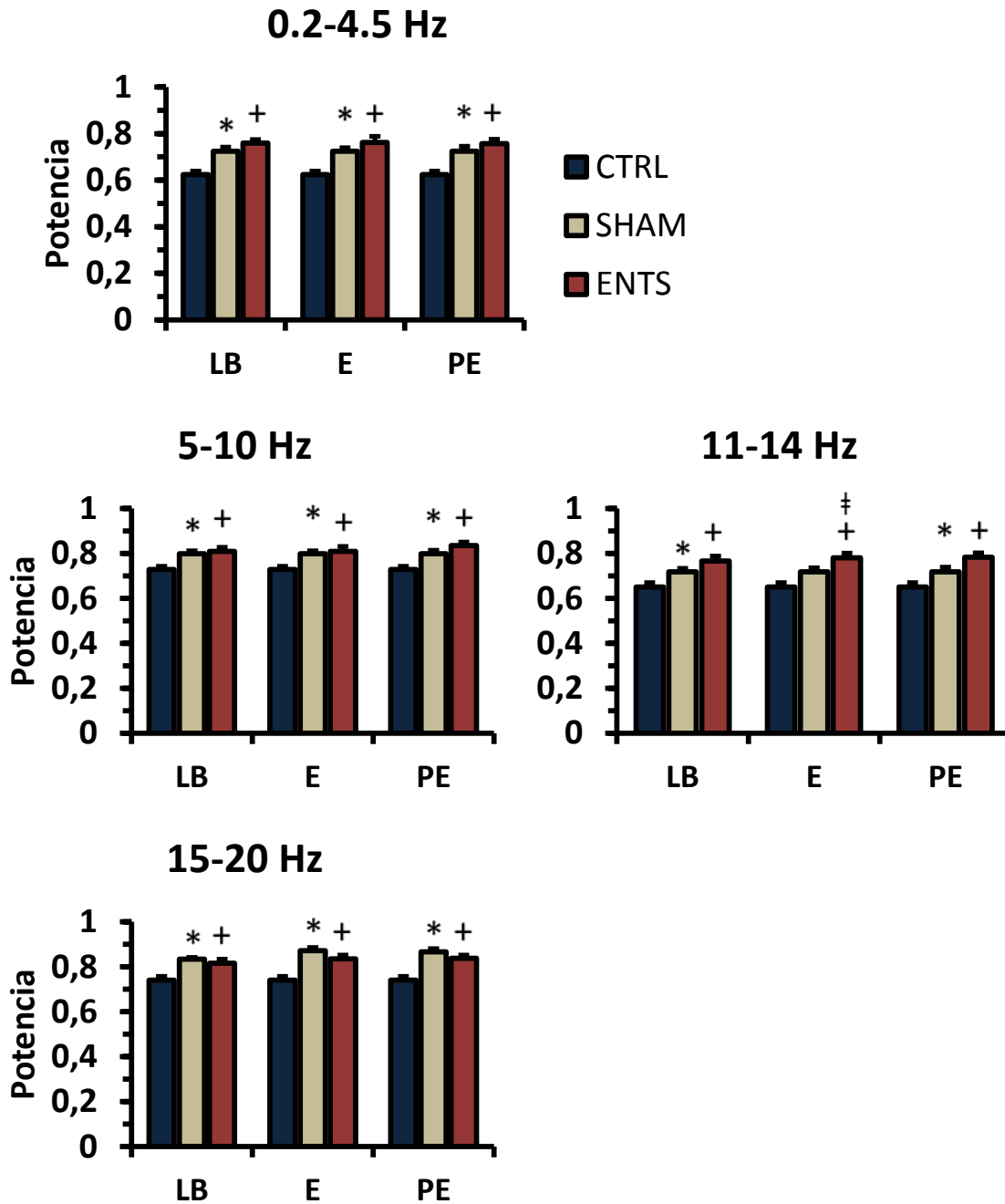


Figura 19. Cambios en la potencia espectral en la corteza motora derecha para 4 bandas de frecuencia. Cambios significativos del grupo ENTS comparado contra control(+), SHAM vs control(*) y ENTS vs SHAM (‡). $p < 0.05$. Nótese que la mayor parte de las bandas de frecuencia del grupo ENTS (rojo) presentan un aumento en la potencia en la hora posterior a la estimulación (PE), dicho aumento también se ve reflejado en la medición de LB. Adicionalmente el grupo SHAM mostró un aumento sostenido en la potencia de tres bandas.

Análisis de coherencia cortical interhemisférica

Para el grupo ENTS se llevó a cabo un análisis de coherencia de la actividad registrada entre pares de electrodos implantados de manera bilateral en cortezas prelímbica y motora. Los registros fueron filtrados para eliminar saturaciones y se obtuvieron arreglos espectrales de coherencia del minuto posterior a cada una de las 10 estimulaciones entregadas a intervalos de 5 minutos diariamente; se delimitó la máxima frecuencia para los espectros en 125 Hz y se obtuvieron 14 valores discretos por cada banda de frecuencia, ubicando la mayor de éstas en 50 Hz. Adicionalmente se tomaron segmentos de 60 segundos cada 5 minutos de la primera hora de registro del día 1 y se les dio el mismo tratamiento descrito, esto para obtener una medida basal de la coherencia interhemisférica. Se realizó un ANOVA de medidas repetidas para los valores de cada una de las bandas de frecuencia delimitadas previamente. Las comparaciones de los datos de dos bandas de frecuencia no superaron la prueba de esfericidad de Mauchly, por lo que los grados de libertad fueron ajustados con la ϵ de Greenhouse-Geisser.

Los cambios más evidentes en la corteza prelímbica se observaron en la banda de frecuencia de 11-14 Hz (alfa) y 21-50 Hz (gamma) siendo éstos un aumento y una disminución de la coherencia respectivamente, sin embargo ninguno de éstos resultó estadísticamente significativo. Los datos se presentan como porcentaje de cambio por día respecto a la línea base. (Figura 20).

En cuanto a la corteza motora se realizaron los mismos procedimientos descritos en el párrafo anterior; se observó un aumento gradual de la coherencia interhemisférica para las bandas de frecuencias más bajas: 0.2-4.5 Hz (delta), 5-10 Hz (theta) y 11-14 Hz (alfa), sin embargo ninguno de ellos resultó estadísticamente significativo.

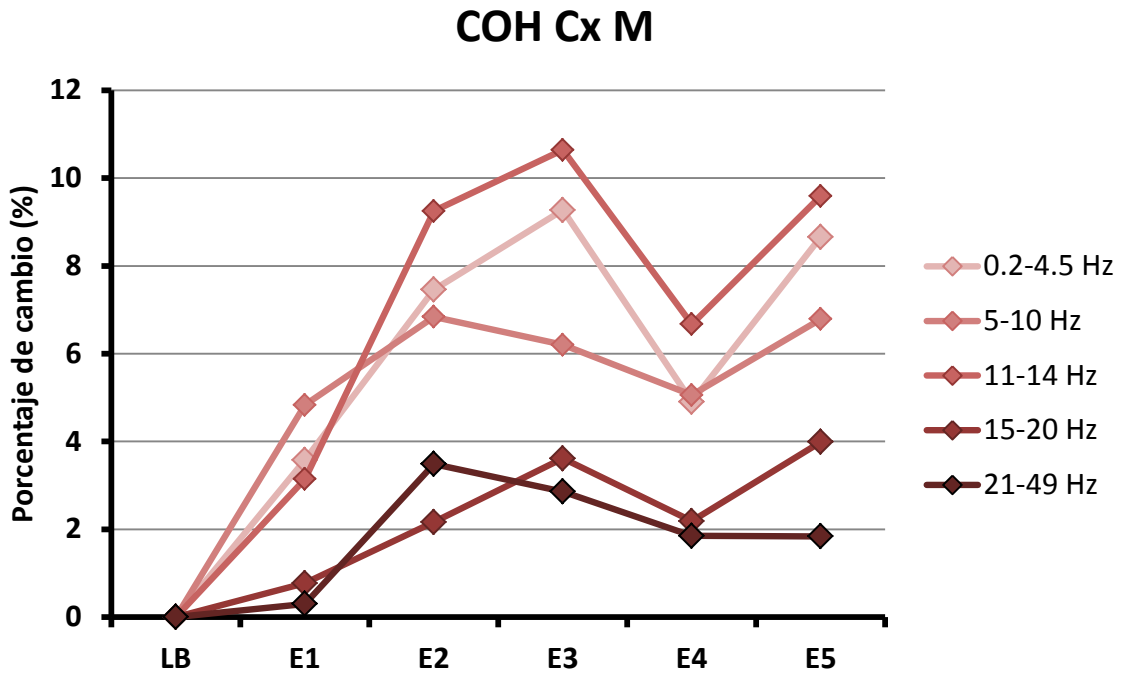
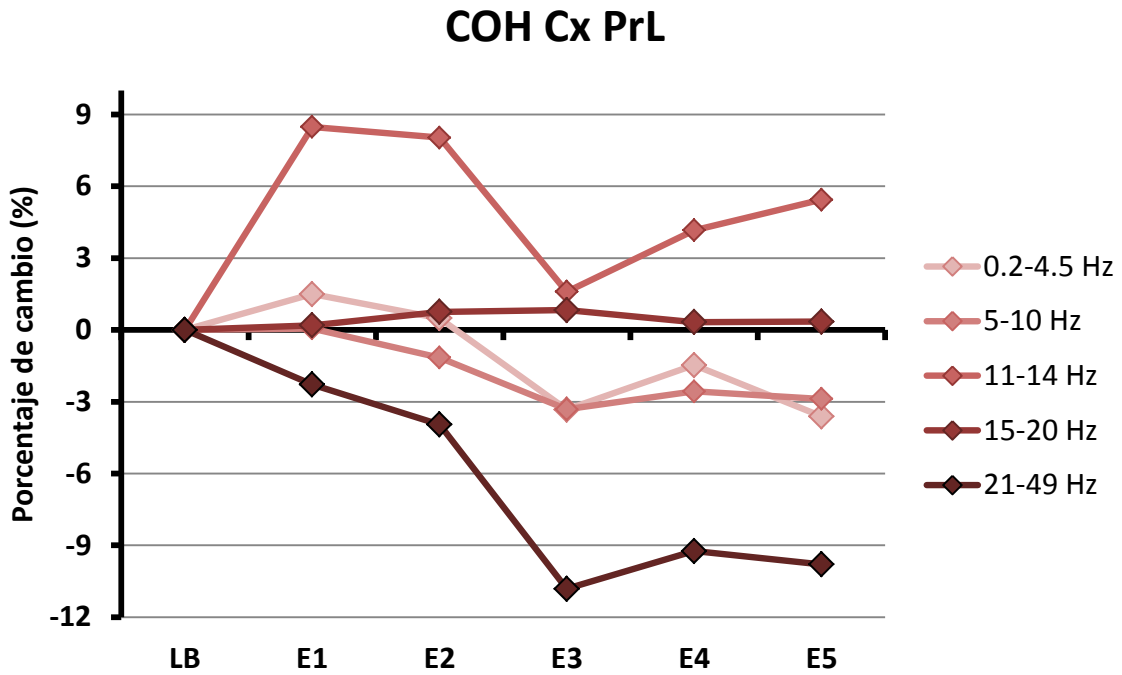


Figura 20. Porcentaje de cambio de la coherencia cortical interhemisférica en CxPrelímbica y CxMotora tras cada día de estimulación comparado contra el valor inicial de línea base (LB). Cada una de las líneas representa una banda de frecuencia previamente delimitada, los colores más claros representan frecuencias más lentas y viceversa

Expresión de las crisis generalizadas

Al finalizar los 5 días de estimulación y registro se realizó la aplicación de PTZ de acuerdo al esquema propuesto por Lutjohann et al. (2009), el registro electrográfico fue analizado junto con videograbaciones de la conducta de los animales y se contabilizaron distintos parámetros de la expresión de crisis generalizadas: 1) número de crisis convulsivas presentadas, 2) duración de las crisis, 3) latencia a la aparición de la primera crisis convulsiva, 4) ocurrencia de uno o más estatus epilepticus y 5) duración de los estatus epilepticus.

El número de crisis presentadas por el grupo ENTS (n=25) fue aproximadamente el 50% del total de las presentadas por el grupo control (n=47). Esta diferencia se encontró estadísticamente significativa ($F=2.172$, $p<0.05$). (Figura 21)

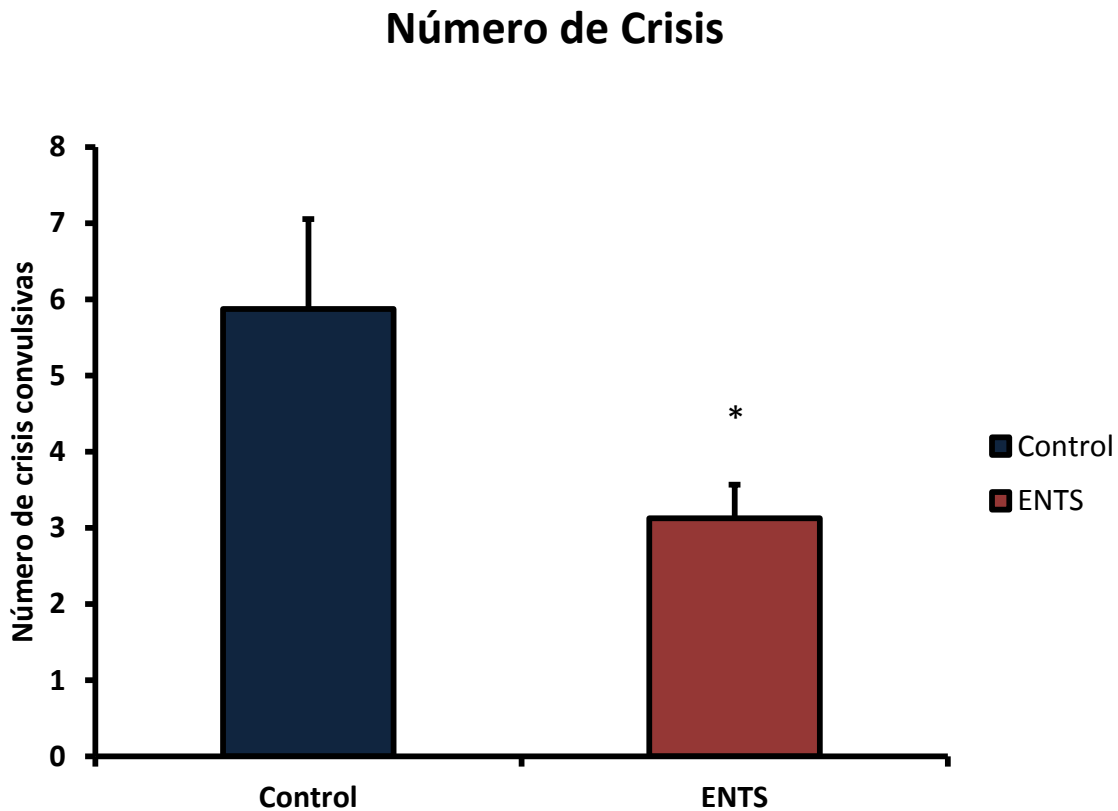


Figura 21. Número de crisis convulsivas presentadas durante la duración del protocolo de administración de PTZ.

No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en la duración de las crisis ($p=0.813$) ni en la latencia a la aparición de la primera crisis clónica o tónico-clónica ($p=0.20$). A pesar de no haber resultado significativa pudo observarse una aparición más inmediata de la primera crisis en las ratas que recibieron estimulación eléctrica en el NTS (Figura 22).

Duración y Latencia de las Crisis

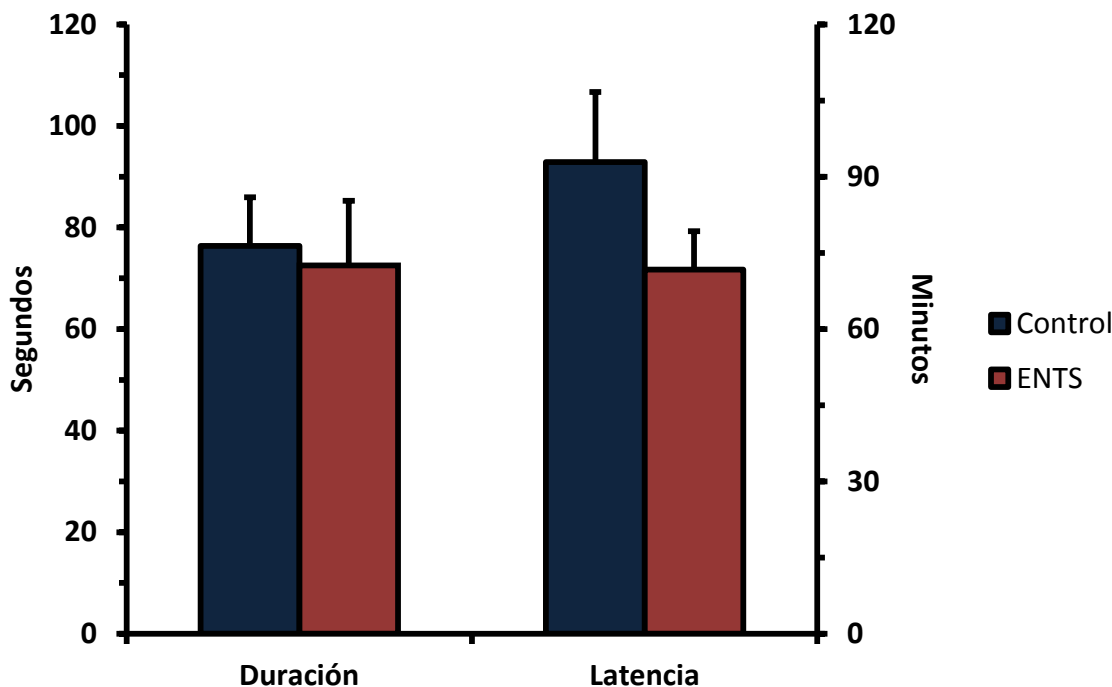


Figura 22. Duración de las crisis medida en segundos y latencia a la aparición de la primera crisis medida en minutos para los grupos Control y ENTS. En ambos casos los datos se presentan como promedio \pm SE.

No se encontraron diferencias significativas ($p=0.282$) entre grupos en la ocurrencia de estatus epilepticus ni en la duración de los mismos entre aquellas ratas que sí lo presentaron. (Figura 23) Se observa sin embargo una tendencia a presentar un menor número de EE entre las ratas del grupo ENTS, habiéndose presentado solamente en una de las 8 ratas, comparado contra 4 de las 8 ratas del grupo Control.

Estatus epiléptico

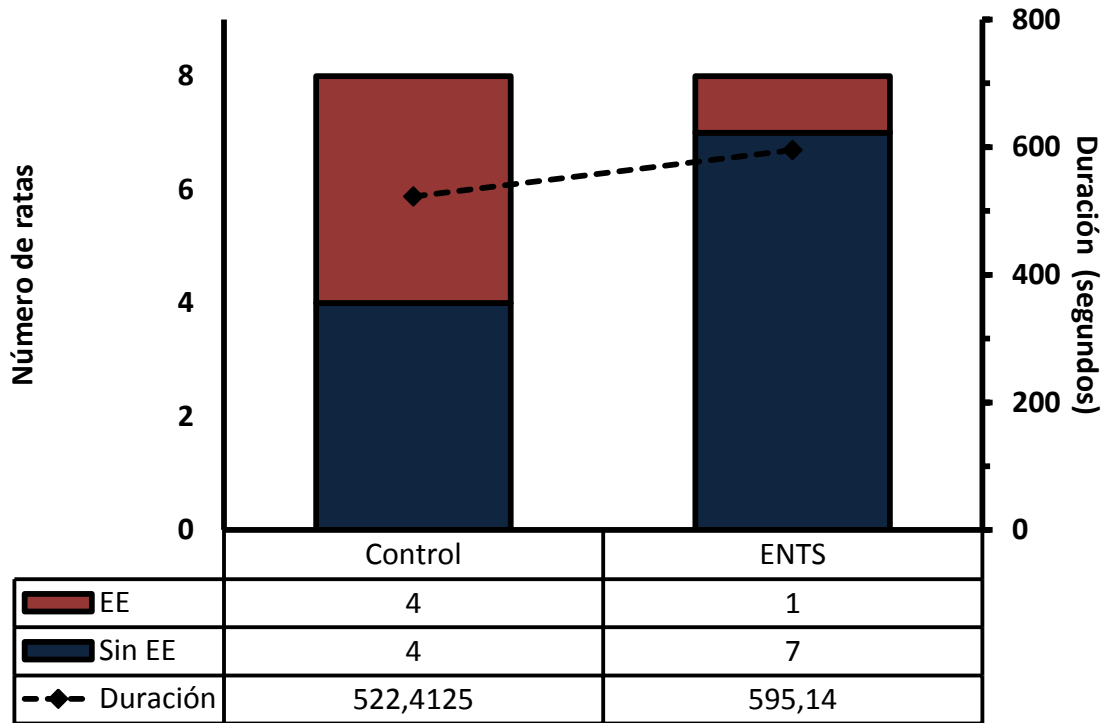


Figura 23. Ocurrencia y duración de Estatus Epiléptico. En gráfica de barras, proporción de las ratas de los grupos Control y ENTS que presentaron al menos un EE durante el protocolo de administración de PTZ. En gráfica de líneas, duración promedio de los eventos de EE por cada grupo.

DISCUSIÓN

Potencia

Se observó un incremento significativo de la potencia espectral en los cuatro canales de corteza registrados; si bien aumentó la potencia de las bandas teta, alfa y beta en los cuatro sitios de corteza registrados de manera acorde a un estudio previo realizado por el grupo de trabajo del laboratorio (Martínez-Vargas, Valdés-Cruz, Magdaleno-Madrigal, Fernández-Más y Almazán-Alvarado, 2017), también se observó un incremento en la potencia de delta, la banda de frecuencia más baja y usualmente asociada a un EEG sincronizado, en ambas cortezas prelímbicas y en la corteza motora contralateral al sitio de estimulación; así como un decremento de la actividad gamma en la corteza prelímbica izquierda.

Adicionalmente un efecto duradero se sostuvo en el grupo que recibió la estimulación del NTS, pudiendo observarse en muchos de los casos y para ambos hemisferios cambios sostenidos en las potencias espectrales, no sólo reflejados en la hora inmediata posterior a las estimulaciones sino también en los valores de LB pertenecientes a los días subsecuentes a cada estimulación. Estos cambios sostenidos se presentaron casi de manera exclusiva en las bandas de potencia teta, alfa, y beta, siendo una excepción la presencia de un aumento duradero de la potencia de la actividad más lenta perteneciente a delta en la corteza motora derecha. A grandes rasgos pareciera que la estimulación del NTS realizada con parámetros conocidos por generar un efecto desincronizador (30 Hz), fue capaz de generar cambios a la alza en la potencia de oscilaciones cerebrales cuyo rango de frecuencia va desde los 0.2 hasta los 20 Hz, sin embargo el aumento en las oscilaciones más lentas (0.2-4.5 Hz) resultó transitorio y restringido a la hora durante la que se realizaron las estimulaciones, exceptuando la corteza motora contralateral.

Coherencia

Jaseja (2010) discute distintos antecedentes los cuales constituyen evidencias de la inducción de una desincronización de la actividad cortical, sin embargo ya sea que se trate de un aumento en la actividad gamma, incremento en la activación del tálamo (íntimamente relacionado al sistema reticular activador ascendente y a desincronización del EEG) o, en el mejor de los casos, un amplia y difusa desincronización observada en registros referenciales por todo el cerebro, cada uno de estos estudios habla en última instancia de medidas de sincronización local, considerando a ésta como la proporción de actividad lenta y “sincronizada” en un mismo canal de registro electrográfico y viceversa; no representan por tanto un indicador de sincronización entre distintos sitios del encéfalo y su posible conectividad funcional.

Por otro lado, si bien Corsi-Cabrera, Guevara, Arce y Ramos (1995) utilizaron un índice distinto a la COH para medir conectividad funcional entre regiones a lo largo de un mismo hemisferio y entre ambos hemisferios (la correlación producto-momento de Pearson), se encontraron con una variación en la conectividad dependiente de las fases del ciclo sueño-vigilia, observando valores aumentados durante el sueño de ondas lentas para bajas frecuencias (1.5-6.5 Hz) así como en una banda correspondiente a husos de sueño (11-15 Hz); presentándose además dicho aumento en la correlación de manera intra e interhemisférica. No fue del todo inesperada la presencia de un efecto similar sobre la sincronía medida mediante un índice de coherencia en función de la activación del NTS, dados los efectos ya documentados de éste último sobre el arousal y la sincronía cortical. (Magnes et al., 1961; Martínez-Vargas et al., 2017). En el presente estudio, aún sin llegar a ser significativo, se observó un aumento en los valores de coherencia de 11-14 Hz para ambos sitios de corteza registrados, así como un incremento en las frecuencias de 0.2-10 Hz en corteza motora y una disminución de la coherencia de gamma en corteza

prelímica. Sorpresivamente y de manera contraria a lo esperado, los cambios obtenidos pueden ser interpretados a grandes rasgos como un aumento de sincronización y por ende facilitadores de la emergencia de crisis epilépticas. Se requiere un análisis distinto para determinar si este efecto es causado por la contigüidad a la estimulación eléctrica de los segmentos de tiempo analizados o si es efectivamente producto de la ENTS sobre la actividad interhemisférica. Adicionalmente, un periodo de tiempo mayor permitiría dar seguimiento a los cambios en los valores de COH y determinar si las tendencias observadas llegan a un punto en que representen un cambio significativo.

Finalmente, los cambios en la sincronía cortical pueden ser mediadores de la efectividad reportada en la supresión de actividad epiléptica, sin embargo es posible también que sean un indicador de los efectos elicitados por la ENTS sobre núcleos moduladores de la actividad cortical, tales como el Núcleo dorsal del Raphe y el Locus Coeruleus (Dorr y Debonnel, 2006), fungiendo como un biomarcador de la activación de dichos núcleos y representando más bien una correlación temporal que una causalidad directa de la supresión de crisis.

Conducta ante las crisis

Las ratas que recibieron estimulación eléctrica del NTS presentaron un número de crisis convulsivas generalizadas, clónicas y tónico-clónicas, significativamente menor que aquellas que no recibieron estimulación eléctrica alguna. Es decir, el grupo que recibió estimulación eléctrica tuvo un 46.8% menos crisis en comparación con el grupo Control. Este resultado es acorde con estudios en los cuales se ha hallado a la ENV efectiva en pacientes con crisis generalizadas, siendo el principal indicador de su efectividad la reducción en el número de crisis presentadas (en ocasiones reportado como una disminución en la frecuencia por unidad de tiempo): en el

primero de ellos alrededor del 50% de pacientes perteneciente a dos grupos con epilepsias sintomática e idiopática generalizada, reportaron una reducción en la frecuencia de las crisis igual o mayor al 50% , de manera similar al 50% de los pacientes de un tercer grupo con epilepsia parcial (Devinsky, O. 2004); en un segundo caso un grupo de pacientes presentó una reducción de 43.3% en la frecuencia de las crisis medida a partir de una línea base y tras un periodo de seguimiento de entre 12-21 meses tras el implante de un estimulador vagal, esto en pacientes con síndromes epilépticos generalizados farmacorresistentes (Holmes, M., 2003); finalmente, Labar, et al. (1999) reportaron que un grupo de pacientes que presentaban una media de 62 crisis por mes, presentaron una reducción de aproximadamente 50% en los siguientes 7 meses. Con un efecto diferencial entre tipos de crisis, reduciendo el número de crisis tónicas en un 44% y el número de crisis tónico clónicas en un 86%. Vale destacar que el modelo de PTZ aplicado de manera aguda constituye un modelo de crisis epilépticas generalizadas, que si bien no puede ser relacionado de manera directa con algún tipo de síndrome epiléptico; sí puede decirse que se trata de un modelo que provoca crisis muy parecidas a las de las epilepsias generalizadas sintomáticas.

En cuanto a la reducción en el número de Estatus Epilepticus presentado por el grupo ENTS, aunque ésta no fue estadísticamente significativa muy probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra y por las características del protocolo experimental, sí se observó una tendencia a presentar un menor número de estos eventos en comparación con el grupo Control. De manera análoga, un efecto así no ha sido reportado en grandes estudios con muestras aleatorizadas, ya sea en animales experimentales o pacientes clínicos, sin embargo sí han sido presentados reportes de caso sobre la efectividad de la VNS para el control de EE en un adulto mayor de 67 años (Yazdi et al, 2016), en un paciente con estatus epiléptico súper refractario de nuevo inicio

(Tomohiro et al., 2017), así como un estudio de seguimiento a un grupo de niños, quienes presentaron una reducción en el número de EE en el lapso de un año, tras haber recibido un implante de NV. (Fernández, Satyanarayana, Tamber y Sogawa, 2017). La posibilidad de frenar la ocurrencia de un EE, dada la emergencia médica que representa debido al riesgo para la vida de quien lo sufre, constituiría una propiedad adicional de la ENV muy valiosa en un contexto clínico; habiendo considerado que no todos los pacientes son candidatos a un implante de estimulación vagal y siempre existe la posibilidad de utilizar tratamientos farmacológicos para detener las crisis, éste tipo de estimulación sería relegado a unos cuantos casos con EE refractario tal como lo fue en los dos reportes de caso arriba mencionados. Nuevos experimentos con una n mayor son necesarios para aclarar el porcentaje de efectividad de la ENV al ser utilizada para frenar eventos de EE y su consecuente viabilidad.

Conclusiones

La estimulación eléctrica del NTS generó los cambios esperados tanto en la potencia espectral como en el control de crisis, esto de acuerdo a estudios previos realizados por el grupo de trabajo del laboratorio. No se observaron cambios significativos en la coherencia cortical interhemisférica sin embargo sí una tendencia al aumento de ésta para todas las bandas de frecuencia en corteza motora así como para una banda de corteza prelámbica; el efecto de estos cambios podría volverse más evidente con un mayor número de días, sin embargo aún en caso de presentarse es poco probable que dichos cambios medien el principal efecto antiepiléptico de la estimulación del nervio vago o del NTS puesto que su efectividad al frenar crisis es uno de los resultados más inmediatos. Adicionalmente, es probable que el registro de núcleos talámicos y su sincronía con la actividad cortical brinden mayor información para un análisis de coherencia.

REFERENCIAS

Referencias bibliográficas

- Albert, G., Cook, C., Prato, F., & Thomas, A. (2009). *Deep brain stimulation, vagal nerve stimulation and transcranial stimulation: An overview of stimulation parameters and neurotransmitter release*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(7), 1042–1060. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.04.006>
- Amar, A., Levy, M., Liu, C., Apuzzo, M. (2009) *Vagus Nerve Stimulation*, Neuromodulation, primera edición, Academic Press, Reino Unido, pp 625-637.
- Baba, S., Sugawara, Y., Moriyama, K., Inaji, M., Maehara, T., Yamamoto, T., & Morio, T. (2016). *Amelioration of intractable epilepsy by adjunct vagus nerve stimulation therapy in a girl with a CDKL5 mutation*. *Brain and Development*, 5–8. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2016.10.007>
- Bartolomei, F., Bonini, F., Vidal, E., Trébuchon, A., Lagarde, S., Lambert, I., McGonigal, E., Scavarda, D. & Benar, C. (2016). *How does vagal nerve stimulation (VNS) change EEG brain functional connectivity?* *Epilepsy Research*, 126, 141–146. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.06.008>
- Bergey, G. K., & Fisher, R. S. (2016). *Brain stimulation for epilepsy*, en Shorvo, S., Perucca, P. y Engel, J. *The Treatment of Epilepsy*, John Wiley & Sons, Ltd., cuarta edición, pp. 967–979.
- Blauwblomme, T., Jiruska, P. & Huberfeld, G., (2014) *Mechanisms of ictogenesis*. *International Review of Neurobiology*, 114,155-185.
- Brailowsky, S. (1999) *EPILEPSIA Enfermedad sagrada del cerebro*, primera edición, Fondo de Cultura Económica, México, pp 15-28.
- Brodtkorb, E. (2015). *Spiritual and religious symptoms in epilepsy*. En: A. Korczyn, Third International Congress on Epilepsy, Brain and Mind: Part 1, *Epilepsy Behaviour*, pp.116-137.

- Cohen, M. (2014) *Analyzing Neural Time Series Data, Theory and Practice*, TheMIT Press, Inlaterra, pp 15-26,51-59, 121-135.
- Corsi-Cabrera, M., Guevara, M., Arce, C. y Ramos, J. (1996) *Inter and intrahemispheric EEG correlation as a function of sleep cycles*. *Neuro-Psychopharmacology & Biology Psychiatric*, 20, 387-405.
- Cunningham, J., Mifflin, S., Gould, G y Frazer, A. (2008) *Introduction of c-Fos and DeltaFosB immunoreactivity in rat brain by vagal nerve stimulation*. *Neuropsychopharmacology*, 33, 1884-1895
- De Herdt, V., Waterschoot, L., Vonck, K., Dermaut, B., Verhelst, H., Van Coster, R., Jaeger, A., Van Roost, D. & Boon, P. (2009). *Vagus nerve stimulation for refractory status epilepticus*. *European Journal of Pediatric Neurology*, 13(3), 286–289. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2008.05.004>
- Devinsky O. (2004) *Vagus nerve stimulation for refractory idiopathic generalised epilepsy*. *Seizure* 13:176–8.
- Dorr, A.E., Debonnel, G., (2006) *Effect of vagus nerve stimulation on serotonergic and noradrenergic transmission*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 318, 890–898.
- Elger, C. &Schmidt, D. (2008) *Modern management of the epilepsy: A practical approach*. *Epilepsy and Behaviour* 12(4), 501-539.
- Faingold, C. (2014) *Neuronal Network Interactions in the Startle Reflex, Learning Mechanisms, and CNS Disorders, Including Sudden Unexpected Death in Epilepsy*. En: *Neuronal Networks in Brain Function, CNS Disorders, and Therapeutics*, Elsevier 407-418.

- Fernandez, L., Gedela, S., Tamber, M., & Sogawa, Y. (2015). *Vagus nerve stimulation in children less than 3 years with medically intractable epilepsy*. *Epilepsy Research*, 112, 37–42.
Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.eplesyres.2015.02.009>
- Fernández, L., Satyanarayana, G., Tamber, M. y Sogawa, Y. 2017 *Vagus nerve stimulation in children less than 3 years with medical intractable epilepsy*. *Epilepsy research*, 112, 37-42
- Fisher, R. (2016). *Operational Classification of Seizure Types by the International League Against Epilepsy*. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
Recuperado de: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Fisher, R. S. (1989). *Animal models of the epilepsies*. *Brain Research Reviews*, 14, 245–278.
- Fisher, R., & Velasco, A. (2014). *Electrical brain stimulation for epilepsy*. Nature Publishing Group, 10(5), 261–270. Recuperado de: <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.59>
- Fisher, R., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J., Elger, C., ... Wiebe, S. (2014). *ILAE OFFICIAL REPORT A practical clinical definition of epilepsy*, 475–482. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/epi.12550>
- Fraschini, M., Puligheddu, M., Demuru, M., Polizzi, L., Maleci, A., Tamburini, G., ... Marrosu, F. (2013). *VNS induced desynchronization in gamma bands correlates with positive clinical outcome in temporal lobe pharmacoresistant epilepsy*. *Neuroscience Letters*, 536(1), 14–18.
Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.12.044>
- Galbarriatu, L., Pomposo, I., Aurrecochea, J., Marinas, A., Agúndez, M., Gómez, J., ... Garamendi, I. (2015). *Vagus nerve stimulation therapy for treatment-resistant epilepsy: A 15-year experience at a single institution*. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 137, 89–93.
Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2015.06.023>

- Giorgi, F.S., Pizzanelli, C., Biagioni, F., Murri, L., Fornai, F., (2004) *The role of norepinephrine in epilepsy: from the bench to the bedside*. Neuroscience & behavioural reviews. 28(5) 507–524.
- Goldberg, E. & Coulter, D. (2013). *Mechanisms of epileptogenesis : a convergence on neural circuit dysfunction*. Nature Publishing Group, 14(5), 337–349. Recuperado de: <https://doi.org/10.1038/nrn3482>
- Guevara, M., Hernández, M. y Sanz, A. (2010) *Programas computacionales para análisis de señales bioeléctricas y evaluación cognoscitiva*. Primera edición, Pandora, México, pp 21-38
- Holmes, M., Chang M., y Kapur V. (2003) *Sleep apnea and excessive daytime somnolence induced by vagal nerve stimulation*. Neurology 61:1126–1129.
- Jaseja, H. (2010). *EEG-desynchronization as the major mechanism of anti-epileptic action of vagal nerve stimulation in patients with intractable seizures: Clinical neurophysiological evidence*. Medical Hypotheses, 74(5), 855–856. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.11.031>
- Jiruska, P., Curtis, M., Jefferys, J., Schevon, C., Schiff, S. & Schindler, K. (2013). *Synchronization and desynchronization in epilepsy: controversies and hypotheses*. The Journal of Physiology, 591(Pt 4), 787–97. Recuperado de: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.239590>
- Kandratavicius, L., Balista, P., Lopes-Aguiar, C., Ruggiero, R., Umeoka, E., Garcia-Cairasco, N., Bueno-Junior, L.,& Leite, J.(2014) *Animal models of epilepsy: use and limitations*. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 10, 1693-1705,

- Korczyń, A., Schachter, S., Amlerova, J., Bialer, M., Emde, W., ... & Rektor, I., (2017). *Third International Congress on Epilepsy , Brain , and Mind : Part 1*, Epilepsy & Behavior 116–137. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.06.044>
- Korczyń, A., Schachter, S., Amlerova, J., Bialer, M., Emde, W., ... & Rektor, I., (2017). *Third International Congress on Epilepsy , Brain , and Mind : Part 3*, Epilepsy & Behavior 116–137. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.06.044>
- Labar, D. (2004) *Vagus nerve stimulation for 1 year in 269 patients on unchanged antiepileptic drugs*. Seizure 13:392–8.
- López-Meraz, M., Rocha, L., Miquel, M., Hernández, M., Toledo, R., Coria-Ávila, G., ... Manzo, J. (2009). *Conceptos básicos de la epilepsia Epilepsy: basic concepts*, Rev Med UV 52(228).
- Lukawski, K., Andres-Mach, M., Czuczwar, M. (2018) *Mechanisms of epileptogenesis and preclinical approach to antiepileptogenic therapies*. Pharmacological reports, 70, 284-293
- Lüttjohann, A., Fabene, P., & van Luijckelaar, G. (2009). *A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats*. Physiology and Behavior, 98(5), 579–586. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.09.005>
- Magnes, J., Moruzzi, G., Pompeino, O. (1961) *Synchronization of the EEG produced by low frequency stimulation of the region of the solitary tract*. Archivio Italiano de Biología 99, 33–67.
- Marrosu, F., Santoni, F., Puligheddu, M., Barberini, L., Maleci, A., Ennas, F., ... Biggio, G. (2005). *Increase in 20-50 Hz (gamma frequencies) power spectrum and synchronization after chronic vagal nerve stimulation*. Clinical Neurophysiology, 116(9), 2026–2036. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2005.06.015>

- Martínez-Vargas, D., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V., Fernández-Más, R. y Almazán-Alvarado, S. (2017) *Effect of Electrical Stimulation of the Nucleus of the Solitary Tract on Electroencephalographic Spectral Power and the Sleep–Wake Cycle in Freely Moving Cats*, *Brain Stimulation*, 10, 116-125.
- Ong, C., & Chong, V. (2010). *The glossopharyngeal, vagus and spinal accessory nerves*. *European Journal of Radiology*, 74(2), 359–367. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2009.05.064>
- Paxinos, G. y Watson, C. (2007) *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*, séptima edición, Academic Press, Reino Unido.
- Pedroza, F., Millán, R. & Peñaloza, Y. (2010) *Epidemiología clínica de la epilepsia*, *Revista Mexicana de Neurociencia*, 11(1): 82-102.
- Piotr, W.O., Bruce J.F., Michael, C., Grant, B., Lee, H., Carmela, T. (2001) *The effect of vagal nerve stimulation on epileptiform activity recorded from hippocampal depth electrodes*. *Epilepsia* 42(3), 423–429.
- Pitkänen, A. & Lukasiuk, K. (2011) *Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets*, *THE LANCET Neurology*, 10(2), 173-186.
- Pitkänen, A., & Engel, J. (2014). *Past and Present Definitions of Epileptogenesis and Its Biomarkers*. *Neurotherapeutics*, 11(2), 231–241. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0257-2>
- Reséndiz, J. (2013). *Epidemiología de la epilepsia en América Latina*. En: A. Velasco, *Epilepsia. Un punto de vista latinoamericano*, 1ª ed, México: Solar, pp.1-10.
- Rodríguez Leyva (2013). *Mecanismos neurofisiológicos de la epileptogénesis*. En: A. Velasco, *Epilepsia. Un punto de vista latinoamericano*, 1ª ed, México: Solar, pp. 11-24.

- Ruffoli, R., Giorgi, F., Pizzanelli, C., Murri, L., Paparelli, A. & Fornai, F. (2011). *The chemical neuroanatomy of vagus nerve stimulation*. Journal of Chemical Neuroanatomy, 42(4), 288–296. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2010.12.002>
- Sarkisian, M. (2001). *Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders*, Epilepsy and Behaviour 216, 201–216. Recuperado de: <https://doi.org/10.1006/ebch.2001.0193>
- Scheffer, I., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M.B., French, J., Guilhoto, L... Zuberi, S.M. (2017) *ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology*. Epilepsia, 58(4), 512-521. doi: 10.1111/epi.13709.
- Schijns, O., Hoogland, G., Kubben, P. & Koehler, P. (2015) *The start and development of epilepsy surgery in Europe: a historical review*, Neurosurgery Review, 38(3), 447–461.
- Targas E, en Targas, E., Contreras, G. y Ríos, L. (2014) *Tratamiento farmacológico de las epilepsias*. Leitura médica Ltda. Pp. 51-56
- Tecoma, E. & Iragui, V. (2006). *Vagus nerve stimulation use and effect in epilepsy: What have we learned?* Epilepsy and Behavior, 8(1), 127–136. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.yebch.2005.09.006>
- Theodore, W. & Fisher, R. (2004). *Brain stimulation for epilepsy*. THE LANCET Neurology, 3(February), 111–118.
- Theodore, W. (2015). *Epilepsy in classical antiquity En: A. Korczyn, Third International Congress on Epilepsy, Brain and Mind: Part 1*, Epilepsy Behaviour, pp.116-137.
- Thompson, J.L., Zaveri, H.P., McCarthy, K., Carpentier, A., Spencer, S.S. & Spencer, D. (1999) *Vagus nerve stimulation effects on intracranial EEG spectra recorded from cortex and thalamus*. Epilepsia 40(7).

- Tudor, M., Tudor, L. & Tudor, K. (2005), *Hans Berger (1873-1941)-the history of electroencephalography*, Acta Médica Croatica, 59(4), 307-13.
- Waldman, S. (2009). *The vagus nerve-Cranial nerve X*. Pain review, 5:29-34
- Westbrook, G. (2013). *Seizures and Epilepsy*. En: Kandel, E., Principles of Neural Science, 5^a ed., Estados Unidos: McGraw-Hill, pp.1116-1139.
- Wolf, P. (2015). *Science and superstition in the history of epilepsy*. En: A. Korczyn, *Third International Congress on Epilepsy, Brain and Mind: Part 1*, Epilepsy Behaviour, pp.116-137.
- Yazdi, J. & Schumaker, J. (2016). *Treatment of Refractory Status Epilepticus with Vagus Nerve Stimulator in an Elderly Patient*. World Neurosurgery, 95, 620.e1-620.e7. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.08.017>
- Yuan, H., Silberstein, S.D. (2016). *Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part I*. Headache, 56(1):71-78.