



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE PSICOLOGÍA

CAMBIOS CONDUCTUALES Y ELECTROGRÁFICOS EN
UN MODELO DE EPILEPSIA

TESIS

QUE PARA OBTENER TÍTULO DE:

LICENCIADO EN PSICOLOGÍA

PRESENTA:

RAMÓN CASIUS PÉREZ CAMPA
JOSÉ ALFREDO OSORIO SÁNCHEZ

JURADO DE EXAMEN

DIRECTOR: DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL
COMITÉ: DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ
DR. EDUARDO ALEJANDRO ESCOTTO CORDOVA
MTRO. CHRISTOPHER ISAAC VILLAMAR FLORES
LIC. RUBEN TORRES AGUSTIN



CIUDAD DE MÉXICO

SEPTIEMBRE 2023



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.

Agradecimientos

De José Alfredo a:

A mi padre quien, con su apoyo, enseñanzas del trabajo duro, formándome en buenos hábitos y fortaleza, que me ha dado toda su confianza en mis decisiones y me impulso a seguir adelante y no voltear atrás.

A mi madre que siempre me da su apoyo y bendición, que me ha enseñado a no rendirme y dar lo mejor que tengo, siempre firmes en lo que sea que hagamos, formarme en buenos sentimientos y valores.

Ambos mi padre y mi madre gracias por ser mi ejemplo de esfuerzo, dedicación y amor.

A mi hermano Alfonso que siempre ha sido ejemplo de nobleza y la importancia de ganarse un lugar en esta vida y mi cuñada y sobrinos que juntos me muestran el valor de la familia.

A mi novia Paula mi compañera desde el inicio de este viaje mi motivación y mi confidente, gracias por ayudarme en desde la más insignificante tarea hasta levantarme en mis peores momentos, por ser mi motor, sin duda no hay un gran hombre sin una gran mujer.

A Casius mi colega de este trabajo mi mejor amigo en todo este proceso de aprendizaje desde la facultad y hasta donde nos lleve este camino de la investigación como el gran equipo que hemos formado.

De Casius a:

A mi mamá por tu apoyo incondicional en todo lo que me gusta, por darme todas las herramientas necesarias y más para llegar hasta donde estoy. Y sobre todo por enseñarme a siempre seguir adelante y nunca rendirme.

A mi papá que aun cuando no podemos vernos seguido, haces lo posible por estar presente, darme ánimo en lo que hago y alentarme a ser mejor, en verdad aprecio mucho todo eso.

A mis abuelos por su cuidado y amor cuando era un niño, los llevo siempre en mi mente y corazón.

A mi novia Michelle por escucharme, inspirarme y quererme. Has sido una gran fuente de fuerza y confianza durante todo este camino. Muchas gracias ayudarme en situaciones complicadas y especialmente por enseñarme de amor sano. Y también a toda tu familia, Jorge, Rosaura, Edson, Sandy (por mencionar algunos), por hacerme sentir siempre como en casa y aceptarme tal cual soy.

A Alfredo, por toda su amistad, compartir este trayecto conmigo y todos esos grandes recuerdos de la facultad, el laboratorio y congresos. Precipuamente por el gran equipo que formamos durante estos años, como grandes amigos y ahora colegas.

De ambos a:

Al Dr. Víctor Magdaleno, mentor, amigo y colega, por tus enseñanzas sobre el cerebro y la vida, por las oportunidades que nos has dado y por todo el apoyo e inspiración para seguir en el camino de las neurociencias. Por convencernos de hacer esta tesis y brindarnos todas las herramientas posibles. Siempre te agradeceremos y te prometemos que el día que tengamos alumnos corresponderemos a ellos todo lo que has hecho por nosotros.

Al Ing. Miguel Ángel Aguillón, por apoyarnos en este trabajo aportándonos su gran creatividad e ingenio solucionando nuestros problemas o dudas. Y sobre todo por compartir grandes momentos en el laboratorio, siempre haciéndonos sentir como en casa.

A Santiago Reyes por darnos la bienvenida al laboratorio, guiarnos en nuestros primeros pasos, por el tiempo y paciencia para enseñarnos lo esencial en el mundo de la investigación.

A todas las ratitas que dieron su vida para desarrollar este trabajo en pro del conocimiento y el avance de la ciencia, en especial a la ratita "enshure".

A Carlos Armando "el patrón", por tu amistad dentro y fuera del laboratorio, por entendernos con lo poco o mucho que pudimos enseñarte y tener la disposición de colaborar.

Y a todas las personas que conocimos e hicimos amistad en nuestro paso por la facultad: a Sara, Italia, Luis, Janeth, Karen, Aketzalli, Mau, Marian, Andrés. Y a todos los profesores que dejaron una huella en nosotros: profesora Gregor, al profe Villeda, profesor Eduardo y al profe Cesar.

Abreviaturas

μl	Micro-litro
μm	Micrometro
AMPA	Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol
AP	Anteroposterior
Ca²⁺	Calcio
CG	Crisis generalizada
CGTC	Crisis generalizada tónico clónica
Cl⁻	Cloro
Cx	Corteza motora
DEO	Descarga Espiga Onda
DV	Dorsoventral
EEG	Electroencefalograma
EPSP	Potencial postsináptico excitatorio
FAE	Fármacos Antiepilépticos
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
Hz	Hercio
i.c.v	Intracerebroventricular
i.p	Intraperitoneal
ILAE	Liga Internacional contra la Epilepsia
IPSP	Potencial postsináptico inhibitorio
K1	25 segundos post-ketamina
K2	190 segundos post-ketamina
K3	275 segundos post-ketamina
KA	Ácido kaínico
Kg	Kilogramo
KH₂PO₄	Potasio di-hidrógeno fosfato
L	Lateral
LB	Línea base
Min	Minuto
ml	Mililitro
mV	Milivoltios
Na⁺	Sodio

Na₂HPO₄	Di-sodio hidrogeno fosfato
NaCl	Cloruro de sodio
ng	Nanogramos
NMDA	N-metil-D-aspartato
NRT	Núcleo Reticular del Tálamo
pH	Potencial de hidrogeno
PTZ	Pentilenetetrazol
s	Segundo
SNC	Sistema nervioso central
SS	Solución Salina

Resumen

La epilepsia es un trastorno neurológico caracterizado por hiperexcitabilidad e hipersincronía de un grupo de neuronas. Se genera a partir de una alteración en el equilibrio entre los procesos excitatorios e inhibitorios. Afecta al uno por ciento de la población mundial y se estima que hay una prevalencia de epilepsia activa de 12.4 por cada 1000 habitantes (Noriega-Morales y Shkurovich-Bialik, 2020).

El tratamiento de primera línea para la epilepsia es el uso de fármacos antiepilépticos (FAE) con un mecanismo de acción dirigido a facilitar el proceso inhibitorio mediado por el ácido gamma-aminobutírico (GABA). Sin embargo, un 30% de los pacientes presentan farmacorresistencia, por lo que resulta importante continuar con la investigación de nuevos fármacos con el mismo mecanismo de acción o uno diferente.

Se sabe que una de las estructuras que participa en la sincronización de los ritmos cerebrales es el núcleo reticular del tálamo (NRT), una lámina compuesta en su mayoría por células GABAérgicas, implicado en el circuito tálamo-cortical y cortico-talamico inhibiendo al tálamo y recibiendo aferencias glutamatérgicas de ambos circuitos. Se conoce su participación en la generación de husos de sueño y crisis de ausencia, aunque su papel en las crisis generalizadas tónico-clónicas (CGTC) no ha sido bien estudiado. Por lo que en este trabajo nuestro objetivo es evaluar la microinyección de ketamina (antagonista N-metil-D-aspartato, receptor de glutamato) en el NRT sobre las CGTC en un modelo experimental de crisis convulsivas inducidas por pentilenetetrazol (PTZ).

Se utilizaron 30 ratas de la cepa Wistar divididas en cuatro grupos: 1) Grupo solución salina (SS), 2) Grupo ketamina a 40ng, 3) Grupo ketamina a 60ng y 4) Grupo ketamina a 80ng. Se realizó una cirugía estereotáxica para implantar un electrodo con cánula en el NRT izquierdo y un electrodo epidural en la corteza motora izquierda. Se inyectaron 250nl/min de SS, 40, 60 y 80ng de ketamina en el NRT, respectivamente. Cinco minutos posterior a la microinyección se administraron 60 mg/kg de PTZ intraperitoneal (i.p.). Se hizo un registro con electroencefalograma (EEG) de una hora y diez minutos. Se analizó por medio del EEG la latencia, duración, frecuencia y número de CGTC y espiga-onda y se comparó la diferencia entre la fase tónica y

clónica. Se utilizó la escala de Racine para medir conductualmente la gravedad de las crisis en cinco estadios y se hizo un análisis histológico para confirmar la dirección correcta de la cánula.

La ketamina en todos los grupos disminuyó el número de espiga-onda y aumentó la gravedad de las crisis convulsivas en número y duración. También aumentaron las frecuencias theta y disminuyeron las frecuencias beta-gamma, a comparación del grupo control. Nuestros resultados muestran que la ketamina en el NRT puede tener un efecto proconvulsivo reduciendo el porcentaje de supervivencia. Esto nos permite concluir que el complejo NMDA en el NRT puede estar asociado con la facilitación de descarga espiga onda (DEO) y su inactivación ayuda a la propagación de la actividad convulsiva.

Índice de contenido

Epilepsia	1
Fisiopatología	1
Tipos de epilepsias	3
Tipos de crisis (Scheffer, 2017; Pack, 2019)	3
Etiología de la epilepsia (Scheffer, 2017; Pack, 2019)	4
Modelos experimentales de crisis convulsivas	5
Modelo PTZ	6
Tratamientos	7
Núcleo reticular del tálamo	7
Propiedades del NRT	8
Husos de sueño/Crisis de ausencia	9
Glutamato y NRT	10
Planteamiento del problema	12
Pregunta de investigación	12
Hipótesis	12
Objetivo general	12
Objetivos específicos	12
Variables independientes	13
Variables dependientes	13
Metodología	13
Aparatos	13
Material	14
Sustancias químicas	14

Animales y grupos experimentales	15
Cirugía	15
Registro de EEG.....	16
Procedimiento	16
Análisis estadísticos.....	17
Análisis histológico	17
Resultados	17
Discusión.....	29
Conclusión	33
Referencias	34

Índice de figuras

Figura 1. Esquema de la actividad excitatoria e inhibitoria de glutamato y GABA	2
Figura 2. Clasificación de los tipos de epilepsia de la ILAE 2014.....	4
Figura 3. Modelos experimentales de epilepsia en ratas	6
Figura 4. Esquema del núcleo reticular del tálamo y conexiones	8
Figura 5. Descripción gráfica del procedimiento experimental	16
Figura 6. Localización del NRT e implante	17
Figura 7. Cortes coronales representativos de la trayectoria del implante al NRT	18
Figura 8. Promedios del tiempo de aparición de la primera crisis y DEO posterior a PTZ.....	19
Figura 9. Promedios del número de crisis y de la duración de la primera crisis	20
Figura 10. La administración de ketamina en el NRT aumentó la gravedad de las crisis convulsivas	21
Figura 11. Comparación entre fase tónica y clónica por grupos y fatalidad	22
Figura 12. Promedio del número de DEO y EEG representativos por grupo.....	23
Figura 13. Cambios en frecuencias theta (4-12 Hz) del NRT	24
Figura 14. Cambios en frecuencias theta (4-12 Hz) del Cx.....	25
Figura 15. Cambios en frecuencias beta (13-30 Hz) del NRT	26
Figura 16. Cambios en frecuencias beta (13-30 Hz) del Cx.....	27
Figura 17. Cambios en frecuencias gamma (31-55 Hz) del NRT	28
Figura 18. Cambios en frecuencias gamma (31-55 Hz) del Cx.....	29

Epilepsia

La epilepsia es un trastorno neurológico que se caracteriza por descargas excitatorias en el sistema nervioso central (SNC) observables en el electroencefalograma (EEG) como actividad con espigas pronunciadas y que tiene correlatos conductuales.

La epilepsia se ha descrito como una enfermedad de red sugiriendo el origen en redes neocorticales, talamocorticales límbicas y del tronco encefálico, y no como un síntoma de anomalías cerebrales locales (Fisher, 2017).

Para el diagnóstico de epilepsia se deben tomar en cuenta dos aspectos, primero corresponder con una probabilidad mayor al 60% de que ocurra otra convulsión, obteniendo datos del propio cuadro clínico, el EEG y/o los hallazgos de neuroimagen, y segundo haber tenido dos o más convulsiones reflejas o no provocadas ocurridas con al menos 24 horas de diferencia (Falco-Walter, 2018; ILAE, 2022).

Fisiopatología

En las epilepsias se pueden encontrar afectaciones en la corteza y sus conexiones con las estructuras del diencefalo, involucrando descargas repetitivas anómalas de un grupo de neuronas y que puede propagarse a más zonas del encéfalo debido a una alteración en el equilibrio entre inhibición y excitación (Gil-Nagel, 2007). Este desequilibrio se puede dar por un aumento en la excitación, mediado por el neurotransmisor glutamato, o por una disminución de la actividad inhibitoria, mediada por GABA, generando la actividad anormal en el cerebro (Figura 1).

La epilepsia provoca crisis generalizadas y focales, en el caso de las crisis generalizadas no se puede distinguir una estructura específica de origen, como sí lo es en las crisis focales, ya que muestran actividad en toda la corteza cerebral. Se ha observado la implicación de redes neuronales bilaterales que pueden generar crisis de ausencia, mioclonías y convulsiones generalizadas tónico-clónicas (CGTC). El avance en EEG y neuroimagen, han permitido identificar regiones cerebrales involucradas en la epilepsia, mostrando que el tálamo participa en todas las crisis

epilépticas generalizadas (Garcia, 2010; Blauwblomme, 2014; Lütjohann, 2022; McGuinness, 2022).

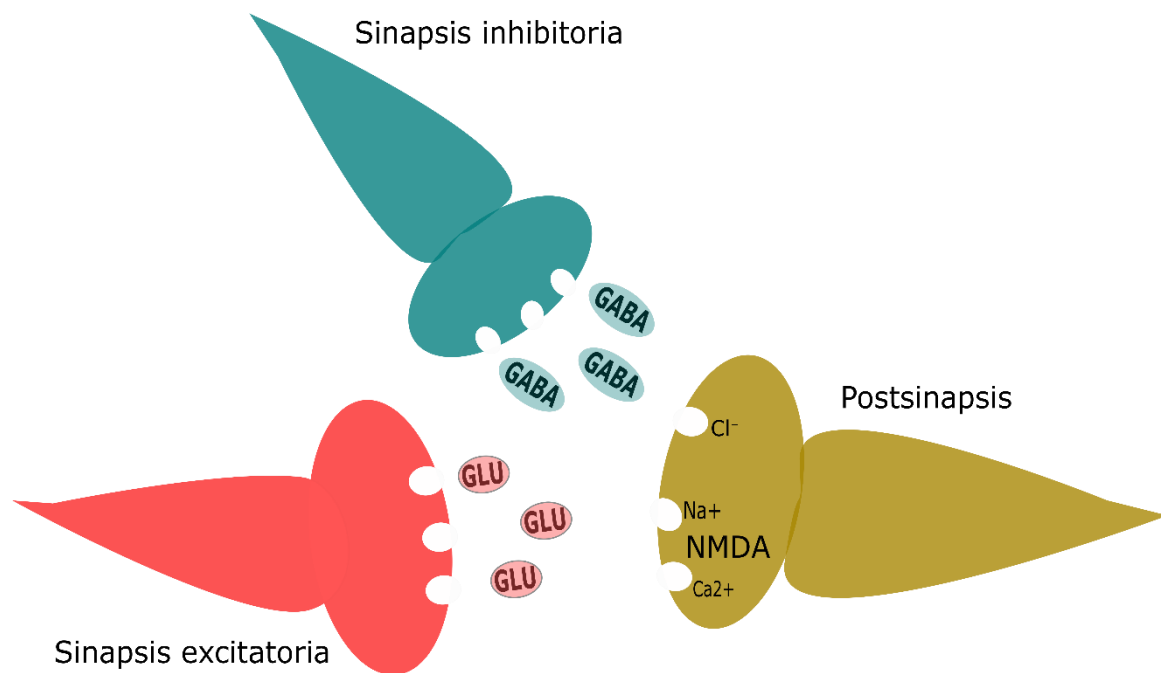


Figura 1. Esquema de la actividad excitatoria e inhibitoria de glutamato y GABA.

Ejemplo de la interacción entre los procesos excitatorios e inhibitorios. La sinapsis excitatoria libera glutamato y se adhiere a sus receptores en la postsinapsis permitiendo la entrada de Ca²⁺ y/o Na⁺ despolarizando la membrana y facilitando la propagación del potencial de acción, por otro lado, la sinapsis inhibitoria libera GABA el cual se unirá a sus receptores en la postsinapsis permitiendo la entrada de Cl⁻ hiperpolarizando la membrana e interrumpiendo la propagación del potencial de acción.

Tipos de epilepsias

La Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE por sus siglas en inglés, *International League Against Epilepsy*) se ha encargado de ir actualizando las clasificaciones con el fin de ayudar a comprender el o los tipos de crisis que tiene el paciente y que tienen mayor probabilidad de presentarse, los posibles desencadenantes de las crisis convulsivas y su pronóstico (Scheffer, 2017).

Las crisis epilépticas se pueden dividir en dos, según el nivel de consciencia y según las manifestaciones (motora o no motora), y se pueden clasificar en: Focal, Generalizada, Combinada generalizada-focal y desconocida (Scheffer, 2017; Falco-Walter, 2018) (Figura 2).

Tipos de crisis (Scheffer, 2017; Pack, 2019)

- Generalizada: Se caracteriza por presentar en el EEG una actividad de espiga onda generalizada. En cuanto al correlato conductual, la persona puede presentar crisis convulsivas de tipo mioclónicas, atónicas, tónicas, de ausencia y tónico-clónica. Las CGTC usualmente duran entre uno y tres minutos y resultan en una pérdida de consciencia.
- Focales: Pueden ser multifocales o unifocales, y se caracterizan por crisis convulsivas que afectan un hemisferio. También se subcategorizan por nivel de consciencia (focales conscientes o focales con alteración de la consciencia), y por manifestación motora (focal motora, focal no motora y focal tónico-clónica).
- Desconocida: Son cuando el médico y/o investigador no puede determinar si el tipo es focal o generalizada.

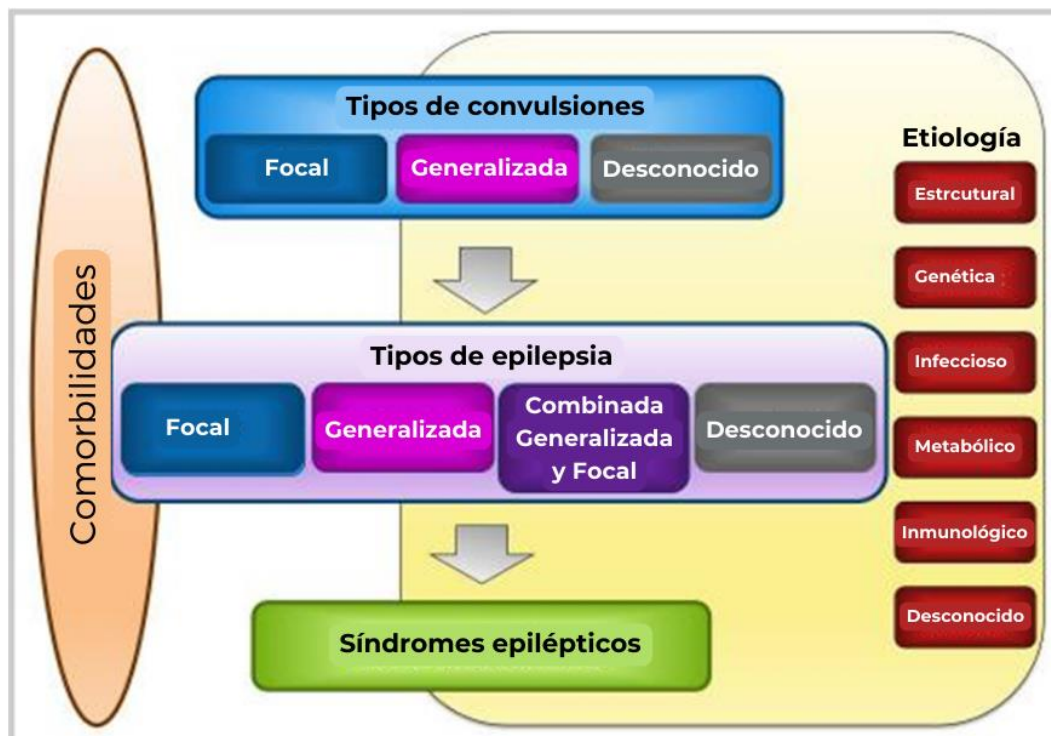


Figura 2. Clasificación de los tipos de epilepsia de la ILAE 2014. Modificado de Scheffer, 2017.

Etiología de la epilepsia (Scheffer, 2017; Pack, 2019)

- Estructural: se determina cuando se encuentran en neuroimágenes una anomalía causante de los signos, síntomas y datos del EEG epilépticos.
- Genética: cuando hay una mutación genética conocida o supuesta que tenga como síntoma las convulsiones.
- Infecciosa: los síntomas epilépticos son producto de una infección y donde las convulsiones son un síntoma central.
- Metabólica: es cuando las convulsiones son un síntoma central de un trastorno metabólico, donde se tienen manifestaciones o cambios bioquímicos en todo el cuerpo.
- Inmunitario: se da cuando un trastorno inmunitario causa convulsiones como encefalitis por anti-receptor N-metil D-aspartato (anti-NMDA).
- Desconocido: se considera este tipo cuando no se tiene una etiología clara.

Modelos experimentales de crisis convulsivas

El desarrollo de modelos experimentales de crisis convulsivas responde a la necesidad de comprender los mecanismos subyacentes de la epilepsia y estos modelos presentan características fisiopatológicas similares en los humanos. La existencia de varios tipos de epilepsia ha resultado en múltiples métodos para inducir la epilepsia o las crisis, como el método de uso de agentes convulsivos, de estimulación eléctrica, método físico, o manipulación genética (Galanopoulou, 2014) (Figura 3). Por lo tanto, estos modelos deberían usarse más intensamente en el descubrimiento preclínico y el desarrollo de nuevos candidatos a fármacos antiepilépticos (Campos, 2018).

Kandratavicius (2014), expone tres modelos para lograr inducir las crisis convulsivas o epilepsia:

- Químico convulsivo: es un modelo de crisis convulsivas recurrentes espontáneas donde se utilizan principalmente el ácido kaínico, pilocarpina, pentilentetrazol (PTZ), la estriquina, penicilina y toxina tetánica, siendo los últimos cuatro para modelar crisis agudas y no como modelos de epilepsia.
- Estimulación eléctrica: es un modelo en donde se producen crisis por el paso de corriente eléctrica en el cerebro, este modelo logra reproducir características epileptogénicas.
- Patología cerebral: modelo centrado en el desarrollo anormal del cerebro inmaduro, provocando redes neuronales aberrantes con características epileptogénicas.

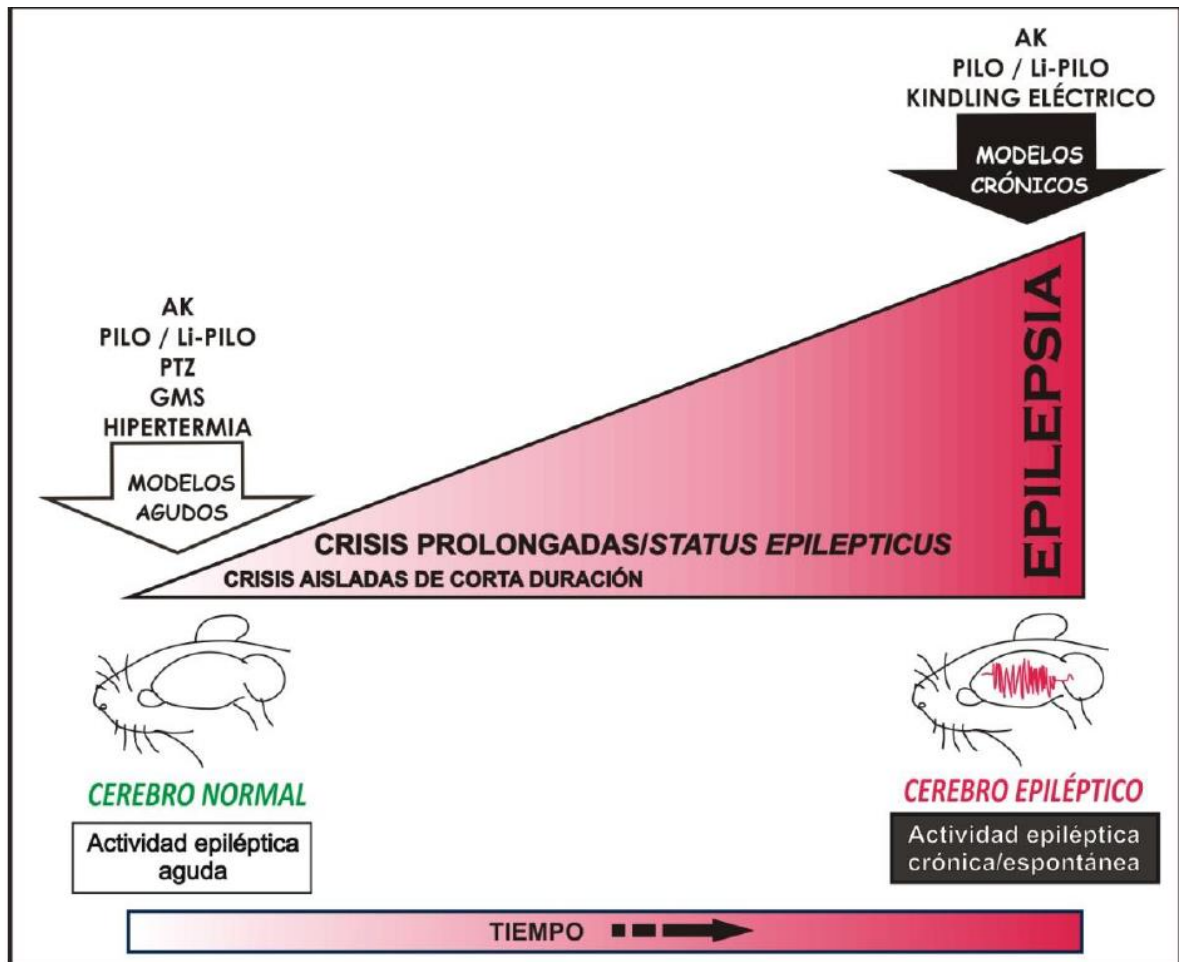


Figura 3. Modelos experimentales de epilepsia en ratas. El esquema representa la diferencia entre los modelos agudos de epilepsia, los cuales se emplean para generar actividad epiléptica en un cerebro normal (ya sea crisis de duración corta o prolongada como en el *status epilepticus*) en comparación con los modelos crónicos, los cuales generan cambios plásticos en el cerebro que causan actividad epiléptica repetida o espontánea. Tomado de Zavala-Tecauapetla y Lopez-Meraz, 2011.

Modelo PTZ

El modelo de PTZ se ha considerado como uno de los modelos estándar de oro para la detección de nuevos compuestos anticonvulsivos mediante la inducción de crisis convulsivas en animales no epilépticos (Campos, 2018). Consiste en la administración de PTZ a una dosis lo suficientemente alta para producir un ataque clónico en las vibrisas y/o en las extremidades anteriores y que dure al menos 5 segundos (White, et al., 1995). El PTZ es un antagonista del receptor GABA_A y puede inducir diferentes

tipos de crisis según la dosis administrada, en dosis bajas (20-40 mg/kg) induce crisis de ausencia y en dosis altas (50-100 mg/kg) se inducen crisis tónico-clónicas generalizadas (André, 1998; Dhir, 2012; Morales, 2012).

Tratamientos

La epilepsia involucra varias alteraciones tanto biológicas como fisiológicas y se vuelve un reto el tratamiento para las distintas crisis epilépticas que pueda tener una persona, por lo que se tienen diferentes estrategias que van desde fármacos antiepilépticos hasta la intervención quirúrgica (Kaeberle, 2018).

- Estimulación del nervio vago: consiste en implantar un dispositivo en el pecho que va a generar impulsos eléctricos para estimular el nervio vago.
- Modificación de la dieta: esta técnica se inicia en el ámbito hospitalario después de 24 horas de ayuno, consiste en la monitorización de calorías, hidratación, electrolitos y cetonas.
- Fármacos antiepilépticos (FAE): se centra en el control de las crisis convulsivas a partir de fármacos que regulan la actividad excitatoria o inhibitoria.
- Intervención quirúrgica: es la última opción cuando no se responde a otro tratamiento, consiste en localizar el foco convulsivo y posteriormente extirparlo logrando así aminorar las convulsiones entre 75% y 85%.

Algunas estrategias de intervención tienen una estructura cerebral de interés para el tratamiento de la epilepsia, como lo es la estimulación del nervio vago o la estimulación cerebral profunda en el núcleo reticular del tálamo.

Núcleo reticular del tálamo

El núcleo reticular del tálamo (NRT) consiste en una lámina compuesta de neuronas GABAérgicas que cubre la mayor parte de las superficies rostral, lateral y ventral del tálamo (Steriade, 2005). Debido a su posición anatómica, el NRT es atravesado por prácticamente todos los axones que conectan el tálamo dorsal con el neocórtex, lo que da al núcleo su aspecto reticulado y su nombre (Fuentealba y Steriade, 2005). Las neuronas GABAérgicas del NRT están inervadas por colaterales axónicas de

neuronas talamocorticales y corticotalámicas y dan lugar a una densa inervación de las células talamocorticales de una manera que a menudo preserva interacciones recíprocas, formando el bucle tálamo-córtico-talámico (McCormick y Bal, 1997) (Figura 4).

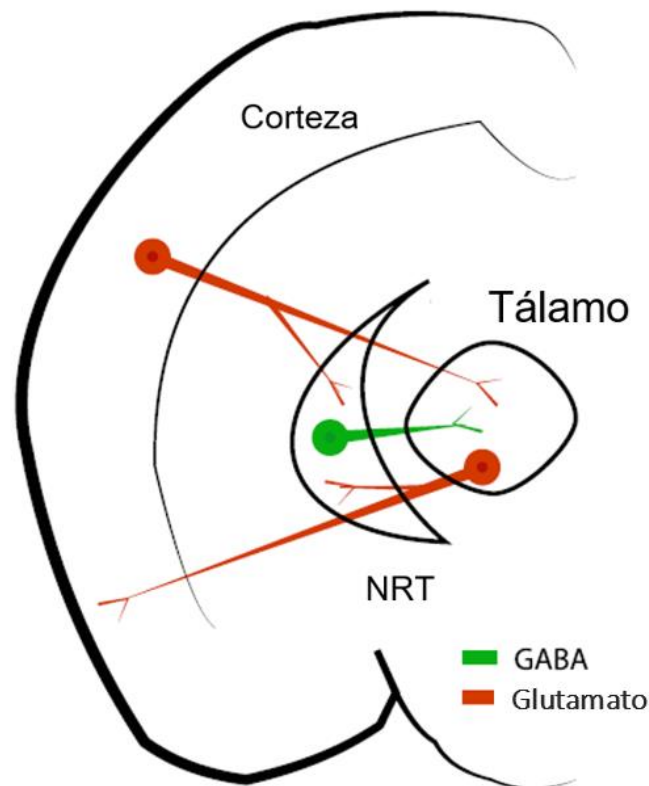


Figura 4. Esquema del núcleo reticular del tálamo y conexiones. Representación gráfica del circuito talamocortical y corticotalámico compuestos de células glutamatérgicas, señalados en rojo. Ambos circuitos proyectan colaterales axónicas que se dirigen al núcleo reticular del tálamo, señalado en verde, compuesto de células GABAérgicas que restringe el flujo de información a través del bucle talamocortical proporcionando inhibición al tálamo. Modificado de Contreras-Murillo y Magdaleno-Madrigal, 2020.

Propiedades del NRT

El NRT puede dividirse en varios sectores a lo largo del núcleo, estos son: un sector visual dorsocaudal (visNRT), un sector auditivo ventrocaudal (audNRT), un sector

somatosensorial ventrocentral (ssNRT) (Takata, 2020) y un sector motor rostral (mtrNRT) incluyendo el límbico y prefrontales, cada uno de estos sectores está conectado a diferentes núcleos talámicos y sus áreas corticales asociadas (Crabtree, 2018).

Se han descrito tres poblaciones de neuronas distintas en el NRT, denominadas de tipo f, F y R: (1) las neuronas de tipo f tienen dos dendritas primarias que se extienden a gran distancia del cuerpo celular, localizadas caudalmente en los sectores sensoriales del NRT; (2) las neuronas de tipo F son el subtipo dominante con dos a cuatro dendritas primarias que emergen de los dos polos del soma, localizadas en todo el NRT; y (3) las neuronas de tipo R son células multipolares con dendritas que irradian en todas direcciones, localizadas preferentemente en el sector límbico anterior del NRT (Takata, 2020).

Las neuronas talámicas disparan en dos modos diferentes, en ráfaga o tónico. El estado de las neuronas determina el modo de disparo: la hiperpolarización (-65 mV más o menos) por inhibición conduce al disparo en ráfaga y la despolarización (hasta aproximadamente -55 mV) por excitación, al disparo tónico. Los canales de Ca^{2+} de tipo T subyacen a los disparos en ráfaga y permanecen inactivados cuando el potencial de membrana está en estado de reposo (McCormick y Bal, 1997; Shin, 2006). El modo de disparo en ráfaga se produce durante el sueño de ondas lentas, mientras que la descarga tónica se detecta durante la vigilia y el sueño de movimientos oculares rápidos (Steriade et al., 1986).

Husos de sueño/Crisis de ausencia

Los husos de sueño se inician y generan en el núcleo aislado del NRT, aparecen durante las primeras fases del sueño, específicamente en la fase 2 (N2) del sueño sin movimientos oculares rápidos (Steriade, 2005). Son secuencias de ondas crecientes y menguantes a frecuencias de 12-16 Hz en el humano y 9-14 Hz en ratas (Schiller et al., 2022), que se repiten periódicamente con una frecuencia de 0,2-0,5 Hz. Los husos son operativos en la producción de plasticidad sináptica dentro de las neuronas del tálamo y la neocorteza (Fuentealba y Steriade, 2005). El NRT necesita el disparo de ráfagas mediado por espigas de Ca^{2+} de bajo umbral (LTS por sus siglas en inglés,

low-threshold calcium spikes) para generar la actividad oscilatoria de huso en el circuito talamocortical (Clemente-Perez et al., 2017).

El mecanismo de generación de husos inicia con las células de relevo talamocorticales generando potenciales postsinápticos inhibitorios hiperpolarizantes (IPSP) mediados por GABA_A y GABA_B que desactivan la corriente de Ca²⁺ de tipo T, produciendo así ráfagas de potenciales de acción una vez que la membrana se ajusta a valores menos polarizados. Estas ráfagas de potenciales de acción, a su vez, excitarán neuronas tanto en la corteza como en el NRT, iniciando así un ciclo de la oscilación que conduce a una actividad oscilatoria rítmica de husos de sueño (Avoli, 2012). Otro tipo de oscilaciones del NRT son las DEO, una forma aberrante de los husos de sueño, que es actividad característica de las crisis de ausencia.

Las crisis de ausencia son episodios breves no convulsivos de interrupción de la conciencia, presenta descargas corticales sincronizadas de espiga-onda (EO) a 3 Hz, consideradas súbitamente generalizadas y bilateralmente sincrónicas. Los complejos espiga-onda van acompañados de disparo neuronal durante el "pico" del EEG y de silencio neuronal durante la "onda" del EEG (Brailowsky, 1999; Steriade, 2005; Beenhakker y Huguenard, 2009).

Las crisis de ausencia se producen preferentemente durante la somnolencia y el sueño de ondas lentas con un origen cortical. Tales crisis se reflejan en el tálamo, donde excitan a las neuronas GABA del NRT y consecuentemente inhiben a las neuronas talamocorticales. La inhibición con aumento de la conductancia de membrana en estas últimas podría explicar el fallo de transmisión de las señales entrantes del mundo exterior y la inconsciencia durante la epilepsia de ausencia (Steriade, 2005).

Glutamato y NRT

El glutamato media en la mayor parte de la neurotransmisión excitatoria rápida del sistema nervioso central (SNC) y excita prácticamente todas las neuronas. Es el principal mediador de la información sensorial, la coordinación motora, las emociones y la cognición, incluida la formación y recuperación de la memoria. El glutamato es un

precursor de GABA en las neuronas GABAérgicas y de la glutamina en las células gliales, es un constituyente de proteínas y péptidos (Hassel y Dingledine, 2012).

Se han identificado cuatro tipos de receptores de glutamato: los receptores de ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico de mamíferos (AMPA), los receptores de kainato (KA), los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) y los receptores de glutamato metabotrópicos (mGlu). AMPA, KA y NMDA constituyen la familia de receptores ionotrópicos (Akyuz et al., 2021). Los receptores AMPA y KA son permeables para Na^+ y K^+ , mientras que el receptor NMDA tanto para Na^+ y K^+ como para Ca^{2+} .

Los receptores ionotrópicos son canales de cationes cuya apertura se favorece (sobre el estado cerrado) cuando el glutamato se une al receptor. Los receptores metabotrópicos no conducen flujos iónicos, sino que activan enzimas intracelulares a través de proteínas G cuando se unen al glutamato (Hassel y Dingledine, 2012).

El glutamato pareciera tener un papel importante en las crisis convulsivas, siendo parte de la hipótesis de la alteración del equilibrio de la transmisión sináptica excitatoria e inhibitoria, donde una mayor concentración de glutamato opaca la inhibición de las neuronas desencadenando el disparo sincronizado para las crisis.

La administración de una sola dosis de antagonistas no competitivos al receptor AMPA en ratas neonatales disminuyó la gravedad de las crisis y aumentó la latencia a la aparición de la primera crisis generalizada inducidas por el kindling eléctrico hipocámpal (Durpuis et al., 2017). Mientras que en crisis inducidas con PTZ muestra efectos diferenciales dependiendo de la edad del neonato. Se suprimieron las crisis tónico-clónicas por completo en ratas de 25 días postnatales y en ratas de 12 y 18 días la fase tónica (Mares y Kubová, 2021).

En una serie de experimentos realizados por el grupo de Ghasemi et al. (2010), utilizaron diferentes antagonistas de NMDAR en un modelo de PTZ, ifenprodil, MK-801 y ketamina fueron administrados vía i.p., logrando aumentar el umbral de la primera convulsión, mientras que con las dosis superiores aumentan el umbral de las convulsiones clónicas, indicando que la inhibición del receptor NMDA contribuye de forma importante a la modulación de las convulsiones clónicas inducidas por PTZ.

Planteamiento del problema

La epilepsia es un trastorno neurológico que afecta al uno por ciento de la población mundial. Se han reconocido estructuras del cerebro que participan en las crisis epilépticas como el tálamo. El núcleo reticular del tálamo regula funciones del tálamo y se conoce que juega un papel en las crisis de ausencia, sin embargo, no se sabe sobre su participación en las crisis generalizadas tónico-clónicas.

Pregunta de investigación

¿Cuál es el efecto de la ketamina sobre las CGTC a través de una microinyección en el NRT?

Hipótesis

La microinyección de ketamina en el NRT por su antagonismo a los receptores NMDA reducirá la aparición y gravedad de crisis inducidas por PTZ.

Objetivo general

Evaluar el efecto de la ketamina intracerebroventricular en crisis inducidas por pentilinetetrazol (PTZ)

Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la microinyección de ketamina en el NRT sobre el EEG en crisis inducidas por PTZ.

Evaluar la gravedad de las crisis mediante la escala de Racine de 1972.

Analizar la latencia y duración de la primera crisis tónico-clónica.

Contabilizar las crisis tónico-clónicas durante 60 minutos.

Evaluar la frecuencia y duración de las espigas-onda posterior a la inyección de PTZ.

Estudiar la duración de la fase tónica y clónica de las CGTC durante 60 minutos.

Análisis en el dominio del tiempo y la frecuencia los cambios de la actividad electrográfica después de la microinyección de ketamina.

Variables independientes

Microinyección de ketamina: se procede con la inyección de 40, 60 y 80 ng de ketamina por medio de una microjeringa marca Hamilton de 2 μ l.

Inyección de PTZ: administración vía i.p. de una sola dosis de PTZ (60 mg/kg).

Variables dependientes

Crisis generalizadas tónico clónicas: son la presencia de crisis convulsivas inducidas por PTZ y medidas con la escala de Racine de 1972.

Cambios en el EEG de NRT y corteza: variabilidad observada de la actividad electroencefalográfica en comparación con el registro de línea base.

Metodología

Aparatos

- Báscula
- Cámara de video
- Computadora
- Estación de soldar
- Estereotáxico David Kopf

- Polígrafo Grass modelo 78E
- Sistema de adquisición ADQ8CH
- Taladro dental Freedom
- Vibratomo Series 1000 Pelco

Material

- Acrílico dental
- Cera de hueso
- Electrodo bipolar de acero inoxidable con cánula
- Gelfoham
- Instrumental quirúrgico
- Microinyector
- Microjeringa de 2 μ l
- Peróxido de hidrógeno
- Plumín
- Solvente
- Tornillos de acero inoxidable
- Trenza de registro de 4 puntas
- Yodo

Sustancias químicas

- *Buffer* de fosfato
- *Buffer* de fosfato con formaldehído al 10%
- *Buffer* de fosfato con sacarosa al 30%
- Ketamina (anestesia)
- Ketamina (experimental)
- Pentilentetrazol
- Pentobarbital
- Solución salina
- Xilacina (relajante muscular)

Animales y grupos experimentales

El trabajo se realizó siguiendo los lineamientos sobre el cuidado y manejo de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y el comité interno para el cuidado y uso de animales de laboratorio (CICUAL) del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM).

Se utilizaron 30 ratas macho de cepa Wistar con un peso entre 250-400 gramos. Se mantuvieron en condiciones de bioterio con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con acceso a agua y alimento *ad libitum*.

Grupo control: 9 ratas

Grupo ketamina 40 ng: 9 ratas

Grupo ketamina 60 ng: 7 ratas

Grupo ketamina 80 ng: 5 ratas

La ketamina experimental se preparó diluyendo 2 μ l de clorhidrato de ketamina en 998 μ l de SS. El *buffer* de fosfato se preparó con una mezcla de 1.42 g de Na₂HPO₄, 0.54 g de KH₂PO₄ y 7.48 g de NaCl en un litro de agua destilada, con un pH de 7.4 ± 0.3 . El *buffer* de formaldehído se preparó con 1L *buffer* de fosfato y 100 mL de formaldehído, para la conservación del tejido. El *buffer* de sacarosa se preparó con 1L de *buffer* de fosfato y 300 ml de sacarosa, para la fijación del tejido cerebral.

Cirugía

Para la cirugía de implante de electrodos, se preparó la zona con alcohol al 95% limpiando el estereotáxico y la mesa de trabajo. Posteriormente se preparó el material quirúrgico colocándolo en Antibenzil diluido con agua. Los animales fueron anestesiados vía intraperitoneal (i.p.) con una mezcla de ketamina y xilacina (85.5 y 10.2 mg/kg respectivamente). Una vez anestesiada la rata se le rasuró la cabeza y fue montada en el estereotáxico para proceder con el implante del electrodo con cánula en el NRT izquierdo con las coordenadas AP= -1.4; L= 2.0; DV= -6.4 (Paxinos y Watson, 2007). Además de un electrodo epidural sobre la corteza motora izquierda y un tornillo con referencia de tierra.

Registro de EEG

Los registros se llevaron a cabo en el laboratorio de Neuromodulación Experimental del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, una semana después de la cirugía, utilizando un polígrafo Grass modelo 78E conectado a un sistema de conversión análogo/digital ADQ8CH desarrollado en nuestro laboratorio adquiriendo con una frecuencia de muestreo de 500 Hz. El registro consistió en:

- Línea base: 10 minutos
- Microinyección de vehículo/sustancia intracerebroventricular: durante 1 minuto
- Periodo post microinyección: 5 minutos
- Inyección de PTZ intraperitoneal: al finalizar los 5 minutos post microinyección
- Registro post PTZ: 60 minutos

Procedimiento

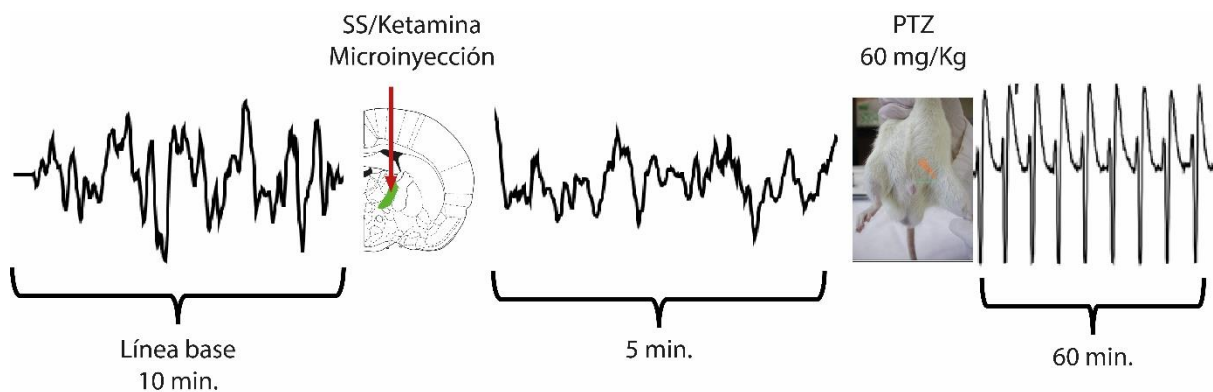


Figura 5. Descripción gráfica del procedimiento experimental. Se registró una línea base con una duración de diez minutos, posteriormente se inició la microinyección de ketamina o solución salina en el NRT y se registró su efecto durante cinco minutos para finalmente administrar PTZ vía i.p. y registrar durante 60 minutos la actividad conductual y electroencefalográfica.

Análisis estadísticos

Para los análisis se utilizó un ANOVA de un factor para examinar las diferencias en las medias de los grupos con *post hoc* Dunnet y Bonferroni para comparaciones múltiples.

Análisis histológico

Se realizaron cortes a 100 micras en un vibratomo *Series 1000 Pelco* para confirmar la trayectoria del electrodo con cánula.

Resultados

El sitio del implante se estableció con las siguientes coordenadas: AP: -1.4, L: 2.0, DV: -6.4, con referencia a Bregma. Posterior a la perfusión se realizó la disección de los cerebros para hacer cortes de 100µm en un vibratomo (Figura 6).

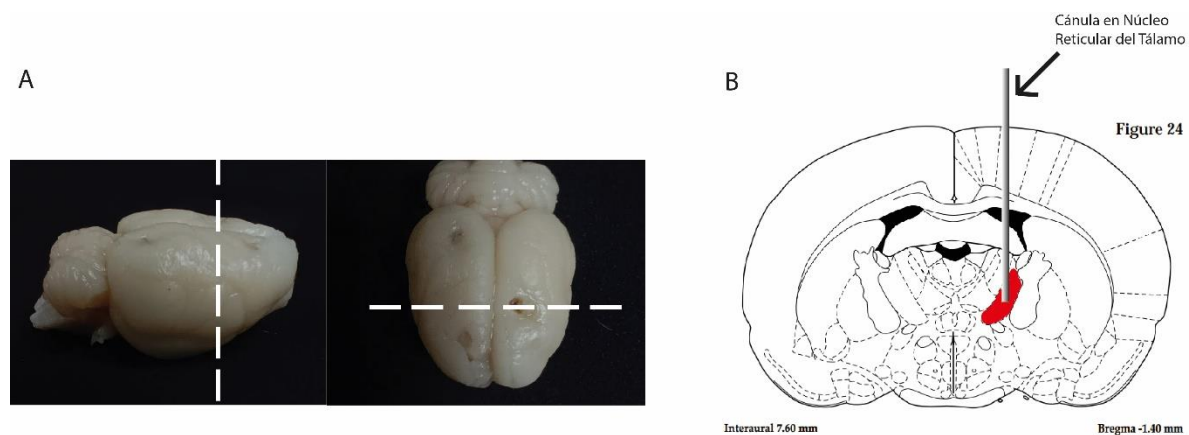


Figura 6. Localización del NRT e implante. A. Imagen de un cerebro de rata Wistar, vista lateral y superior, señalando la localización del corte con líneas punteadas. B. Imagen de un corte coronal con el NRT en color rojo, sitio del implante de electrodo con cánula, extraído de Paxinos y Watson, 2007.

El análisis histológico confirmó el sitio del implante en el NRT, en 30 de 40 animales implantados. En el grupo control se implantó con éxito en nueve de 10 animales, para el grupo de 40 ng se confirmó en nueve de 12 animales, en el grupo de 60 ng se

implantó correctamente en nueve de 12 animales y para el grupo de 80 ng se confirmó en cinco de siete animales (Figura 7).

Un dato que se suma a la confirmación de la trayectoria es el cambio en la conducta del animal en la manipulación por la microinyección de la ketamina, mostrándose agitada y hostil en el período anterior a la microinyección, reduciendo las conductas aversivas en un tiempo promedio de 25 s posterior a la ketamina.

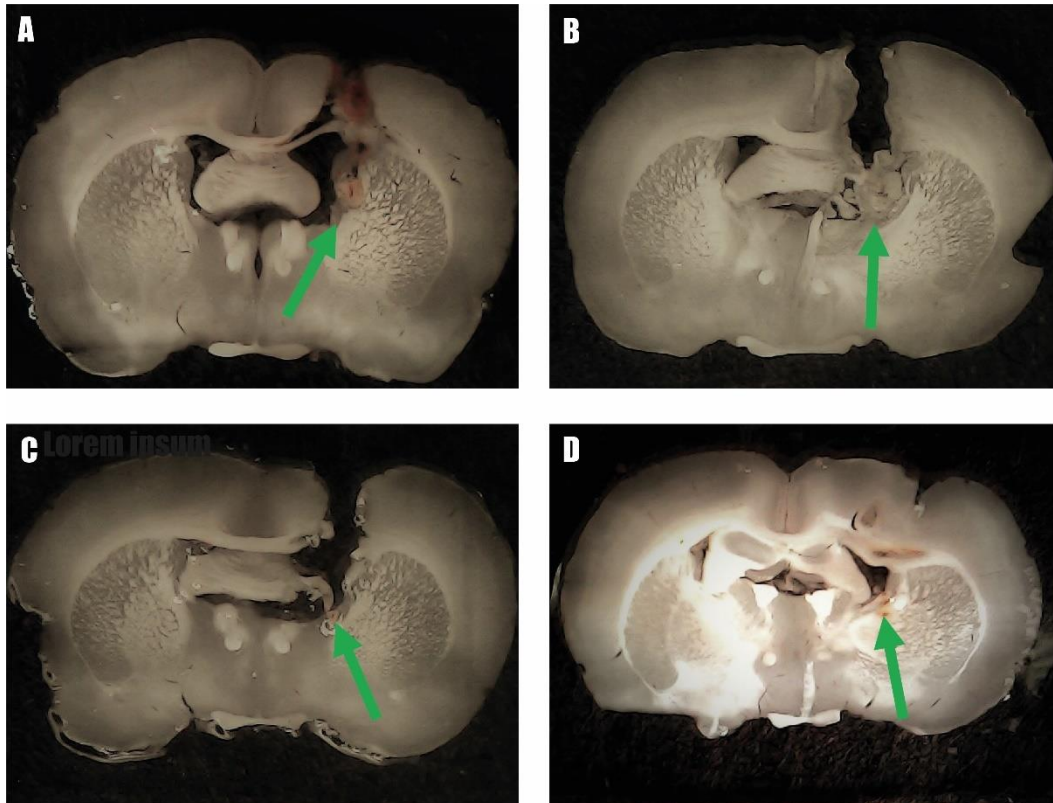


Figura 7. Cortes coronales representativos de la trayectoria del implante al NRT.

A. Inicio de la lesión y trayectoria (AP: -1.00, L: 2.0, DV: -6.4). B. Lesión del electrodo con cánula (AP: -1.3, L: 2.0, DV: -6.4). C. Trayectoria y sitio de implante en el NRT (AP: -1.4, L: 2.0, DV: -6.4). D. Fin de la lesión y trayectoria (AP: -1.7, L: 2.0, DV: -6.4).

El tiempo de aparición de la primera CG posterior a la inyección i.p. de 60 mg/kg de PTZ en el grupo control presentó un promedio de 69.3 ± 27.2 s de latencia, los grupos de 40 y 80 ng de ketamina se mantuvieron en rangos de 60.7 ± 9.1 s y 70.2 ± 15.1 s, respectivamente. Con una dosis de 60 ng se aumentó el tiempo de aparición de la primera crisis a 269.9 ± 238.9 (Figura 8A). Los análisis de ANOVA de una vía y comparaciones múltiples de Dunnett mostraron cambios significativos sólo en el grupo de 60 ng ($F=5$, $gl=26$, $p > 0.05$).

Para la latencia a la primera DEO (Figura 8B), el grupo control presentó una latencia promedio de 115 ± 123.1 s, se encontró que todos los grupos experimentales tuvieron una disminución en el tiempo promedio de aparición, siendo mayor en las dosis de 40 y 80 ng, debido a que estas dosis lograron desaparecer por completo las descargas espiga onda en más del 50% de los animales por grupo (40 ng = 6/8; 80 ng = 3/5). El grupo de 60 ng de ketamina se mantuvo cerca de los valores del grupo control con un promedio de 85.8 ± 36.5 . A pesar de la disminución en la latencia no se mostraron diferencias significativas ($F=1.4$, $gl=28$, $p < 0.05$).

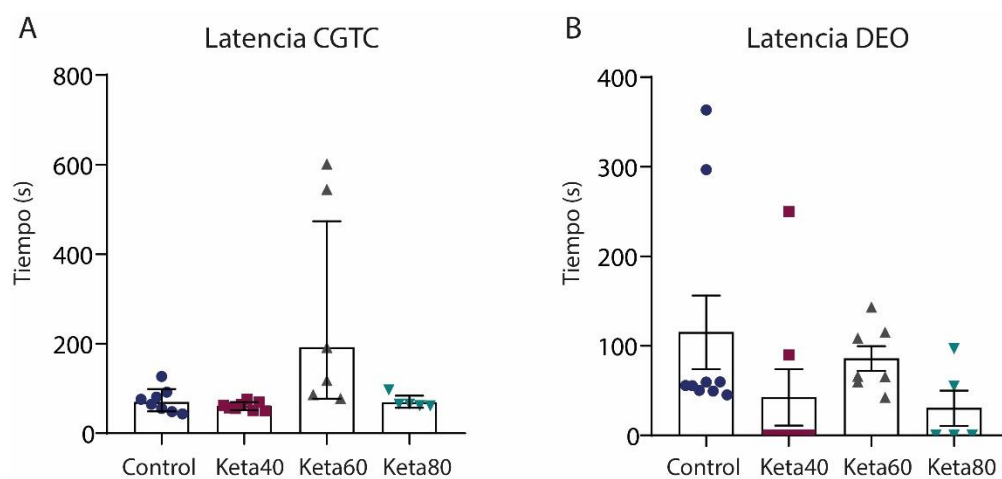


Figura 8. Promedios del tiempo de aparición de la primera crisis y DEO posterior a PTZ. A. Latencias a la primera CG de todos los grupos. Se nota un aumento en el tiempo de aparición de la primera CG en el grupo de 60 ng de ketamina. B. Latencias a la primera DEO en todos los grupos. Todos los grupos de ketamina mostraron una reducción, siendo mayor en dosis de 40 y 80 ng.

El análisis de las crisis convulsivas se centró en el número y duración de la primera crisis (Figura 9). Con respecto al número de crisis presentadas en el registro de 60 minutos posterior a PTZ, el grupo control mostró un promedio de una crisis, los grupos de 40 y 80 ng presentaron promedios similares, siendo de 1.7 ± 0.7 y 1.8 ± 0.8 crisis, respectivamente. El grupo con la dosis de 60 ng presentó el número promedio más alto con 2.2 ± 1.3 crisis, mostrando diferencia significativa al grupo control con $F=2.6$, $gl=24$, $p < 0.05$.

La duración de la primera crisis posterior a PTZ en el grupo control presentó un promedio de 32 ± 14.5 s, la ketamina mostró un efecto aumentando el tiempo promedio en todas las dosis, para el grupo de 40 ng igual a 52.6 ± 28.3 s, a 60 ng igual a 40.57 ± 16.2 s y para 80 ng un promedio de 49.02 ± 21.9 s. A pesar del aumento en la duración, estos datos no mostraron diferencias significativas ($F=1.4$, $gl=26$).

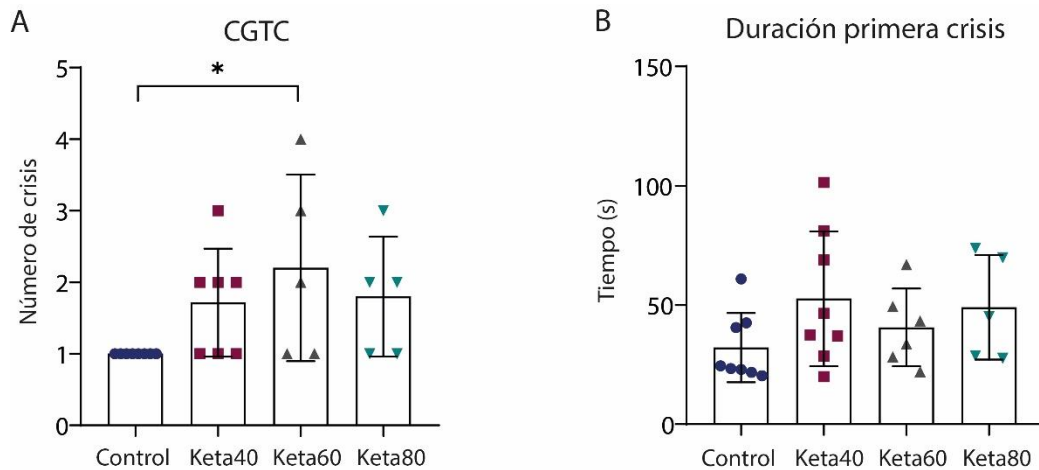


Figura 9. Promedios del número de crisis y de la duración de la primera crisis posterior a PTZ. A. El número de crisis promedio por grupo. Se observa una tendencia al aumento con la ketamina en todos los grupos, siendo mayor y significativo con la dosis de 60 ng. B. Duración de la primera crisis. Se nota un aumento en el tiempo por la administración de ketamina, siendo mayor en los grupos de 40 y 80 ng, sin ser significativo. $*(p<0.05)$.

Se evaluó la gravedad de las crisis por estadio conductual según la escala de Racine de 1972, se observó que en los cuatro grupos no hay diferencia en el estadio alcanzado por la dosis de PTZ donde se alcanzó el estadio 5 (crisis tónico-clónica con pérdida de postura y saltos salvajes) (Figura 10A). En el porcentaje de fatalidad se observó que el grupo control no presentó muerte por las crisis convulsivas, para las dosis de ketamina se vio un aumento en la tasa de mortalidad, teniendo un porcentaje de 66% en el grupo de ketamina a 40 ng, 28% en el grupo de ketamina a 60 ng y finalmente 80% de fatalidad en el grupo de 80 ng, siendo significativos los grupos de 40 y 80 ng con $F=5.9$, $gl=29$, $p<0.05$ (Figura 10B). En la latencia de muerte posterior a la inyección de PTZ (Figura 10C), se observa que el grupo control no presentó

muerres, en el grupo de 60 ng se vio una latencia máxima de 2099 s y en los grupos de 40 y 80 ng una latencia máxima a la muerte de 670 y 585 s, respectivamente.

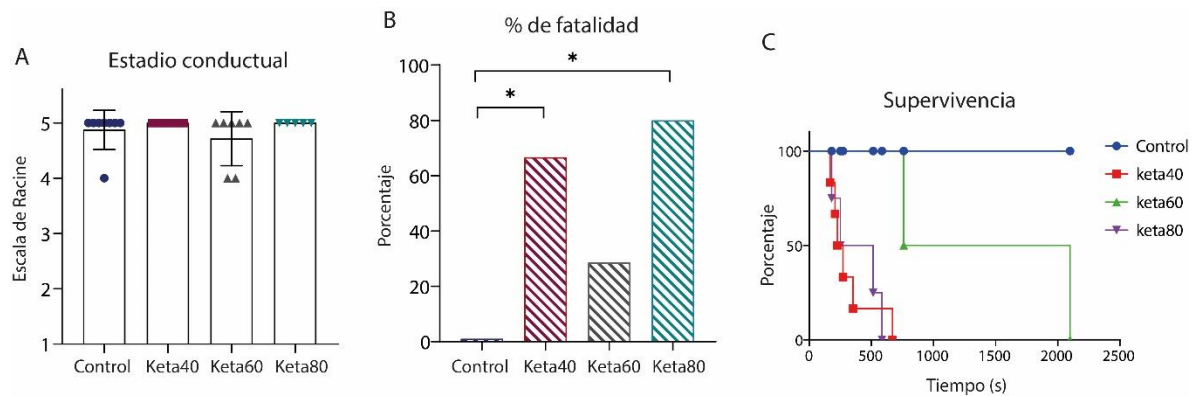


Figura 10. La administración de ketamina en el NRT aumentó la gravedad de las crisis convulsivas. A. Estadio alcanzado según la escala de Racine 1972 llegando en todos los grupos a estadio 5. B. Porcentaje de muertes significativamente mayor en los grupos 40 y 80 ng (66.6% y 80% respectivamente). C. Gráfico de supervivencia por grupo (40 ng n= 6, 60 ng n= 2, 80 ng n= 4). *p <0.05

Se analizó la duración de la CGTC en sus dos diferentes fases (clónica y tónica), en el grupo control se tiene un promedio de fase clónica de 32 ± 14.4 s y tónica de 0 s. Se observa que las dosis de 40 y 60 ng de ketamina aumentaron en algunos casos la duración de la fase clónica a 50.4 ± 21.6 y 54.7 ± 38.8 s, respectivamente. Se puede observar que en las tres dosis probadas de ketamina se presentó fase tónica continua a comparación del grupo control que no llegó a presentar esa fase, sin ser significativo con $p > 0.05$ (Figura 11A). En las muertes, la aparición de la fase tónica mostró un 100% de fatalidad independientemente de la dosis de ketamina administrada, a comparación de los animales que solo llegaron a tener fase clónica (Figura 11B).

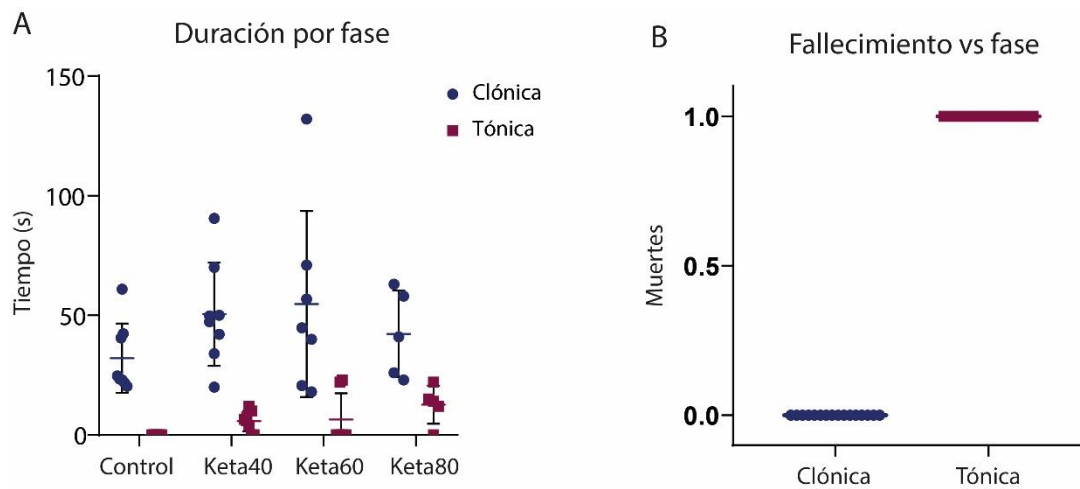


Figura 11. Comparación entre fase tónica y clónica por grupos y fatalidad. A. Gráfica de comparación de tiempos que duró la fase clónica y tónica por rata. B. Comparación de la fatalidad por la presencia de fase clónica y tónica. Destacar que el grupo clónico sólo presentó esa fase, mientras que el grupo tónico presentó ambos tipos de crisis convulsivas, tanto clónico como tónico.

El número de DEO muestra en el grupo control un promedio de 300 ± 127.3 DEO reduciéndose a 11.33 ± 22.5 en el grupo a 40 ng, 6.2 ± 5.8 en el de 60 ng y 18 ± 41.4 en el grupo de 80 ng, teniendo diferencias significativas con un análisis ANOVA de una vía y correlaciones múltiples de Dunnett con $F=32.4$, $gl=29$, $p<0.05$. Esto ya que una gran parte de los animales de los grupos a 40 (6 de 9) y 80 ng (3 de 5) no presentaron estas descargas (Figura 12).

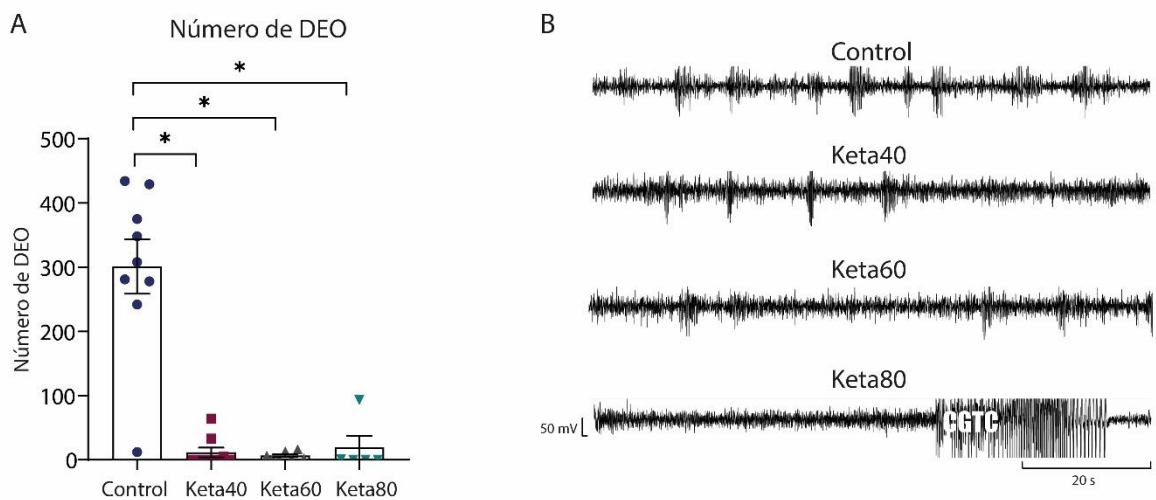


Figura 12. Promedio del número de DEO y EEG representativos por grupo. A. Número de DEO por grupo. Se nota una disminución en todos los grupos tratados con ketamina. **B.** Trazos representativos de EEG por grupo, donde se nota una reducción en la aparición de DEO. * $p < 0.05$

El análisis realizado en el dominio de la frecuencia y en el dominio del tiempo, se centró en los anchos de banda theta (4-12 Hz), beta (13-30 Hz) y gamma (31-55 Hz), los periodos de tiempo analizados comprenden K1: 25 s, K2: 190 s y K3: 275 s, posteriores a la microinyección de ketamina. Los datos se obtuvieron y analizaron de la TRF con ayuda del programa Matlab y Origin Pro 2023b.

Las frecuencias theta en el NRT en el grupo control se mantuvieron estables en los cuatro tiempos, en el grupo de 40 y 80 ng encontramos un aumento de potencia en las frecuencias de 6 a 8 Hz en K1, mientras que en K2 y K3 disminuyeron las potencias en todo el ancho de banda, en el grupo de 60 ng se observa una disminución progresiva en el tiempo de la potencia de todas las frecuencias (Figura 13).

En Cx se observó en el grupo control una reducción de la potencia en frecuencias de 6 a 8 Hz de K1 a K3, en el grupo de 40 ng se observa una disminución de la potencia de las frecuencias bajas (4-8 Hz), en el grupo 60 ng disminuyó progresivamente en el

tiempo de la potencia de todas las frecuencias, en el grupo de 80 ng se encontró que las frecuencias de 7-12 Hz disminuyeron (Figura 14).

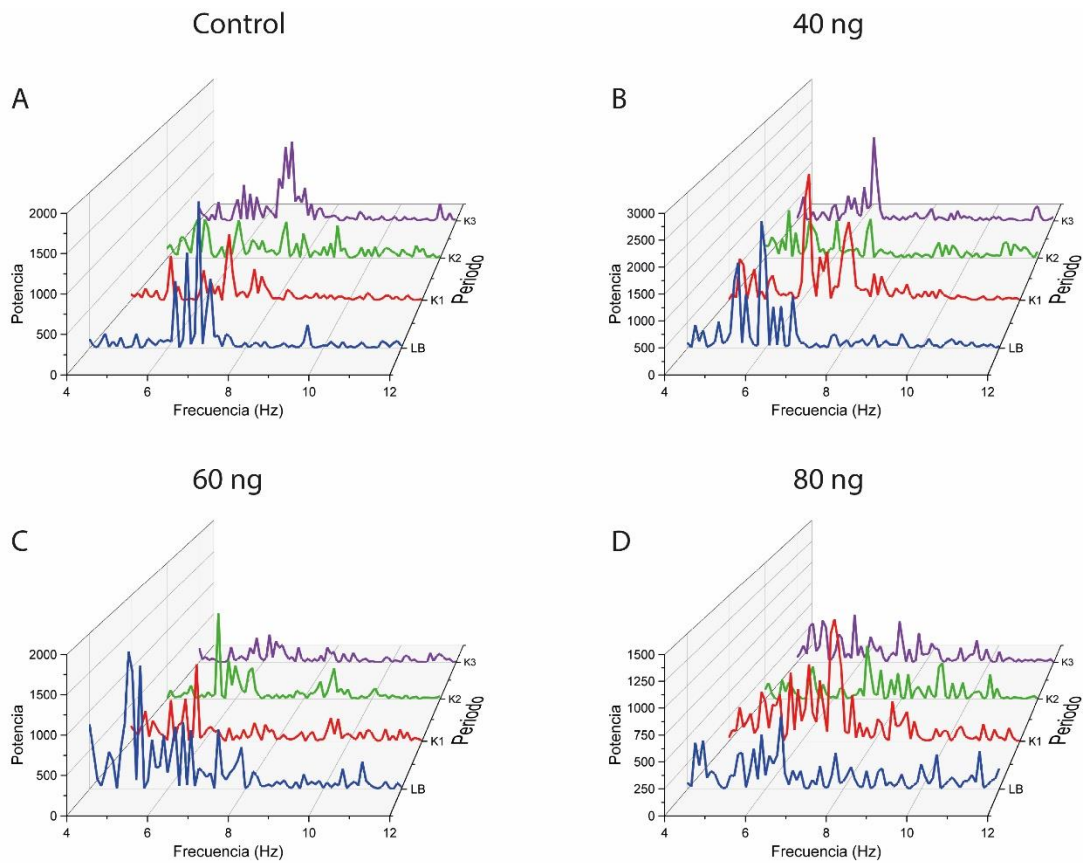


Figura 13. Cambios en frecuencias theta (4-12 Hz) del NRT. A. No se observan cambios significativos en la potencia de las frecuencias. B. Hay un aumento en las frecuencias bajas en K1; en K2 y K3 se puede ver una disminución de la potencia en todo el ancho de banda. C. Se observa una disminución progresiva en la densidad todo el ancho de banda, teniendo la menor densidad en K3. D. Se observa un aumento de las frecuencias bajas en K1, que disminuye en todo el ancho de banda de K2 a K3.

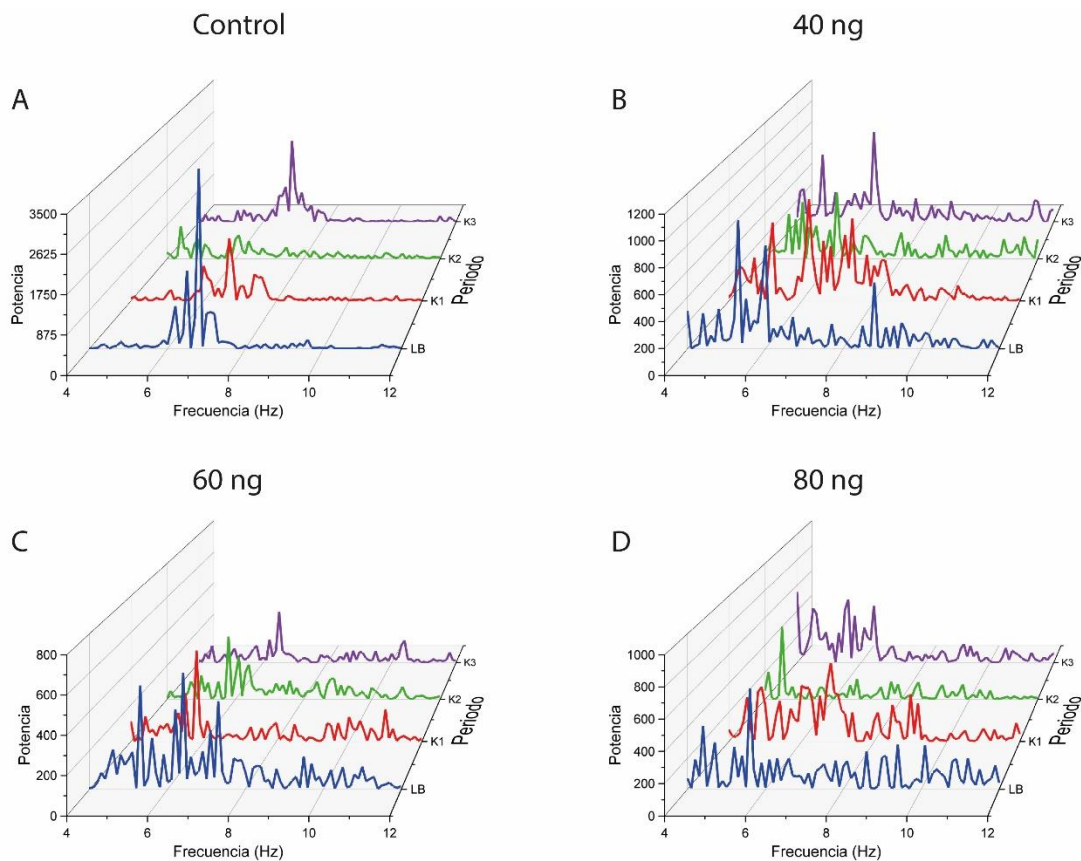


Figura 14. Cambios en frecuencias theta (4-12 Hz) del Cx. A. Se observa una disminución de la potencia en frecuencias de 6 a 8 Hz a comparación de la línea base. B. Se puede observar una disminución de la potencia de theta bajas en K2 y K3. C. Se ve una disminución progresiva en el tiempo de todo el ancho de banda. D. En K3 se observa que las frecuencias altas disminuyen considerablemente predominando una mayor potencia en las frecuencias bajas.

En el análisis de las frecuencias beta en el NRT mostró que el grupo control aumentó ligeramente la potencia de las frecuencias de 13-20 Hz, en el grupo de 40 ng se encontró un aumento de las frecuencias en todo el ancho de banda de K1 a K3, siendo mayor en K2, en el grupo de 60 ng aumentaron las potencias de 13-20 Hz en K1 y K3, en el grupo de 80 ng disminuye la potencia de todo el ancho de banda en K1 y K2, con un aumento de las frecuencias de 13-20 Hz en K3 (Figura 15).

En Cx para el grupo control se encontró un aumento de las frecuencias de 13-20 Hz en los tres tiempos, en el grupo de 40 ng aumento la potencia de todo el ancho de banda en K1 y K2, disminuyendo en K3, en el grupo de 60 ng aumentan las

frecuencias de 13-20 Hz en K1 y K3, manteniendo un potencia base en K2, en el grupo de 80 ng se encontró una disminución de la potencia en K1 y K2, y aumentando sobre los 13-20 Hz en K3 (Figura 16).

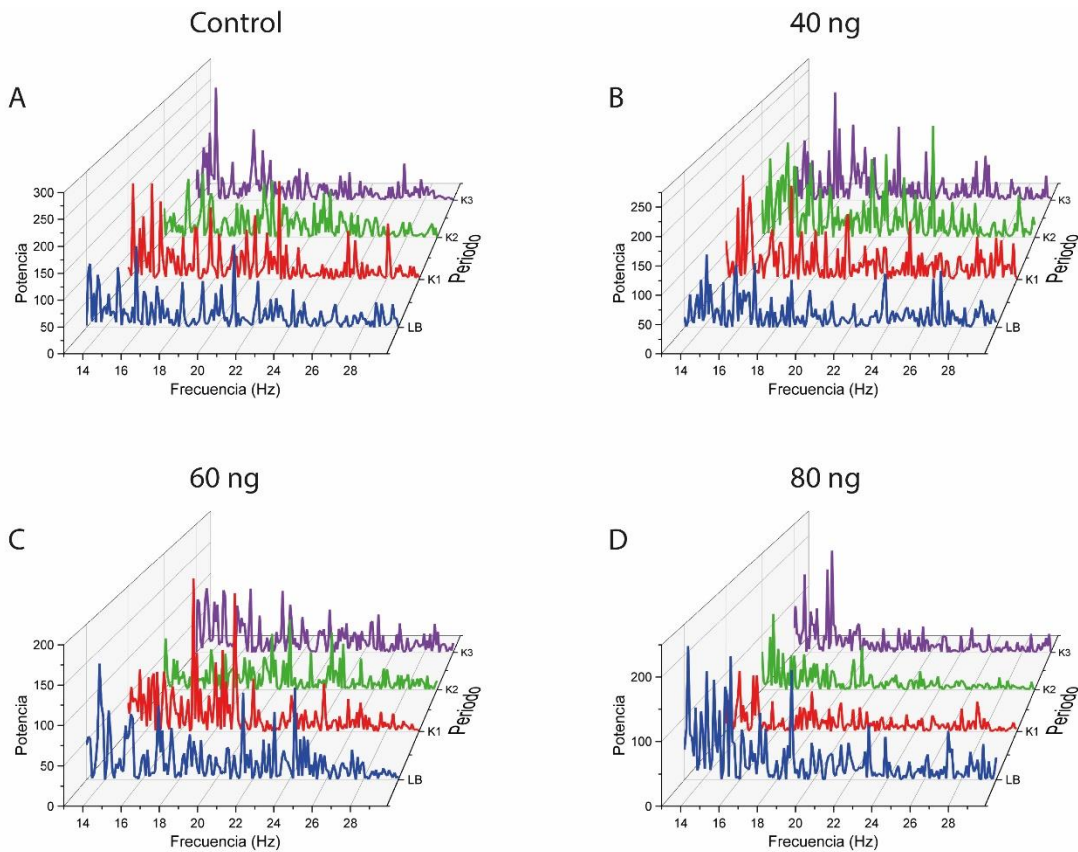


Figura 15. Cambios en frecuencias beta (13-30 Hz) del NRT. A. Muestra un aumento ligero de la potencia de baja frecuencia. B. Hay un aumento de la potencia en todos los tiempos. C. Se nota un aumento marcado en K1 de la potencia de baja frecuencia, mientras que K2 regresa a línea base y K3 tiene un aumento ligero de potencia en frecuencias bajas. D. Hay una disminución de la potencia en K1 y K2, con un aumento de potencia en frecuencias bajas en K3.

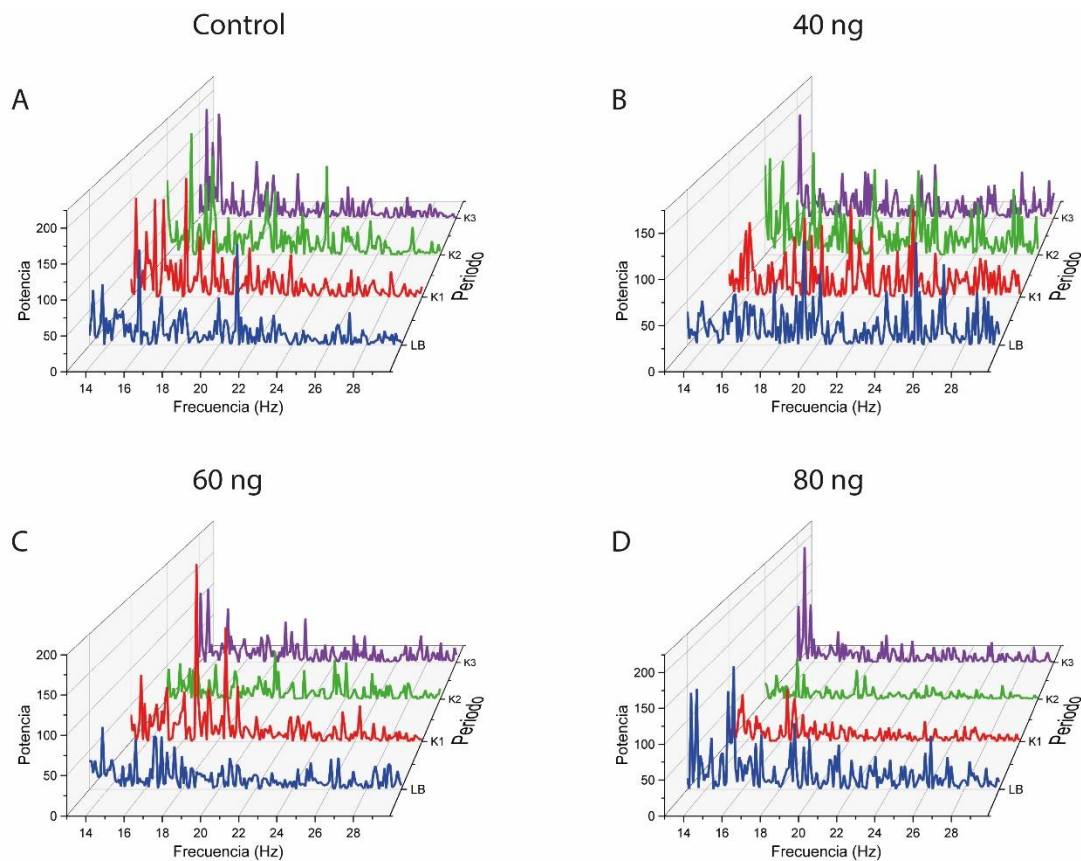


Figura 16. Cambios en frecuencias beta (13-30 Hz) del Cx. A. Muestra un aumento ligero de la potencia de baja frecuencia. B. Hay un aumento de la potencia en K1 y K2, disminuyendo en K3. C. Se observa un aumento de la potencia en frecuencias bajas en K1 y K3, regresando a un estado basal en K2. D. Hay una disminución de la potencia en K1 y K2, con un aumento de la potencia de frecuencias bajas en K3.

En el ancho de banda gamma del NRT los grupos control y 60 ng no mostraron cambios en la potencia, mientras que en los grupos de 40 y 80 ng disminuyeron progresivamente en el tiempo la potencia de las frecuencias de 31-45 Hz (Figura 17).

En las frecuencias gamma de Cx no encontraron cambios en el grupo control en la potencia de todo el ancho de banda, el grupo de 40 ng hay un aumento sostenido de la potencia de las frecuencias de K1 a K3, en el grupo de 60 ng disminuye la potencia de las frecuencias de 31-40 Hz, en el grupo de 80 ng se observa una reducción de la potencia de todas las frecuencias en K1 y K2 mientras que en K3 aumentan (Figura 18).

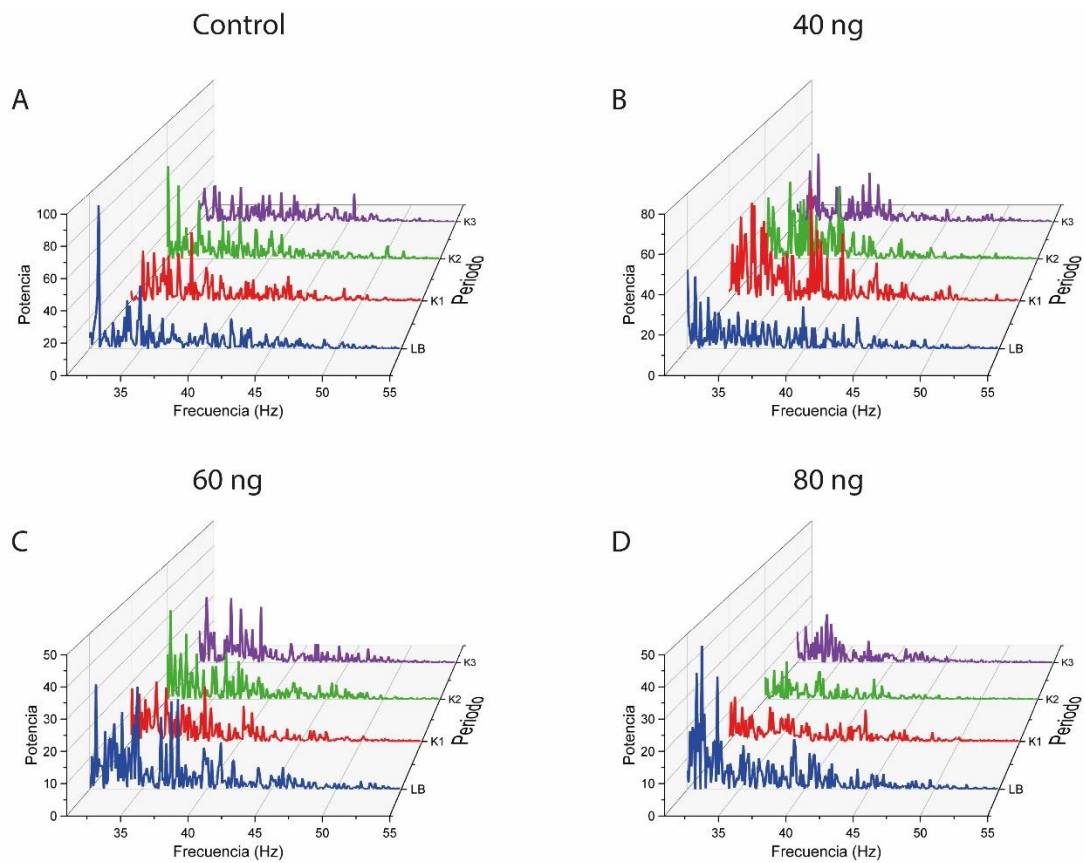


Figura 17. Cambios en frecuencias gamma (31-55 Hz) del NRT. A. No se observan cambios en la potencia. B. Se observa un aumento en K1 y una disminución progresiva en la potencia en las frecuencias bajas hasta K3. C. No se observan cambios en la potencia. D. Se nota una disminución progresiva en la potencia en las frecuencias bajas.

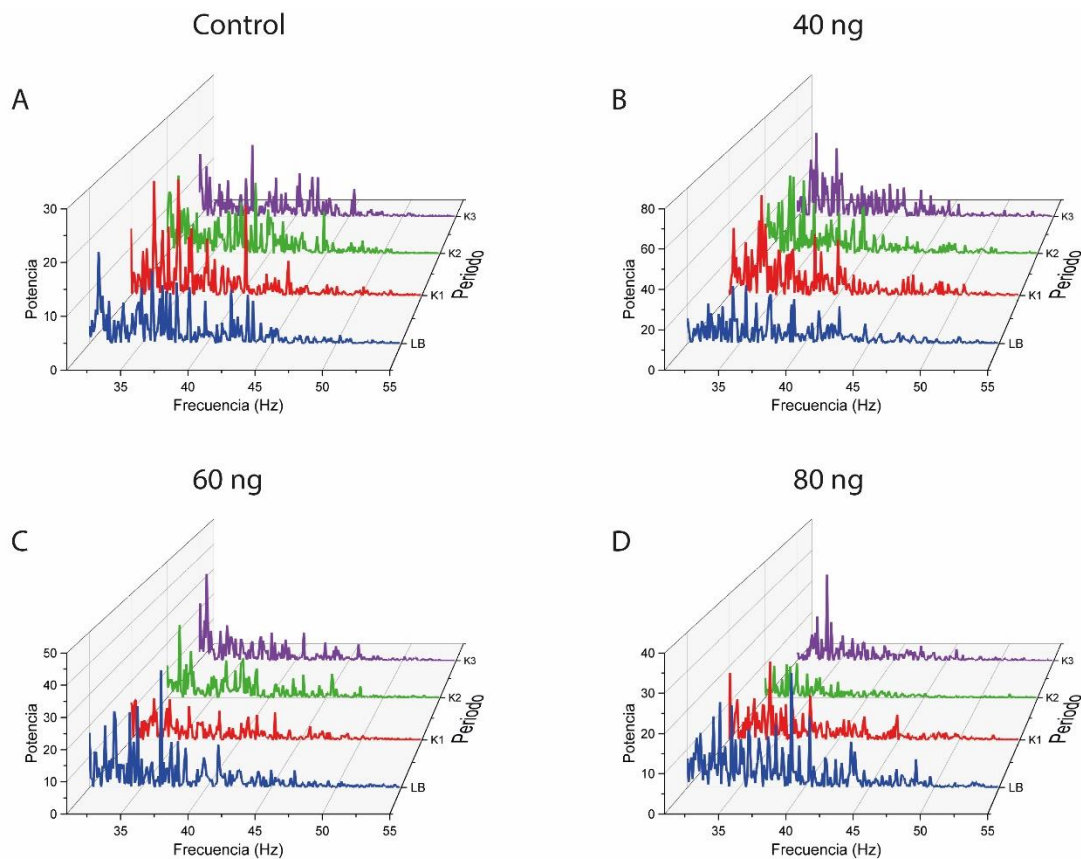


Figura 18. Cambios en frecuencias gamma (31-55 Hz) del Cx. A. No se observa diferencia en la potencia. B. Se ve un aumento sostenido de K1 a K3 en la potencia de las frecuencias. C. Se observa una disminución de potencia a frecuencias bajas en K3. D. Se observa una disminución en la potencia de las frecuencias, aumentando en K3.

Discusión

El propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto de la microinyección de ketamina en el NRT en un modelo de crisis inducidas por PTZ. En los resultados obtenidos se encontró que la ketamina facilitó la aparición y gravedad de las crisis, debido al mayor número y duración de las crisis convulsivas con mayor duración de la fase tónica y una disminución drástica del porcentaje de supervivencia y número de DEO. Así como una alteración en las oscilaciones de las frecuencias beta, theta y gamma. Esto puede deberse a que los antagonistas NMDA, como ketamina, fenciclidina y MK-801, bloquean preferentemente estos receptores en interneuronas GABAérgicas (Amat-Foraster, 2018), y al bloquear NMDA en el NRT se reducirían los

disparos GABAérgicos (Zhang et al., 2009), desinhibiendo la liberación de glutamato en regiones corticales y núcleos talámicos (Coyle et al., 2012; Troyano-Rodríguez et al., 2014; Amat-Foraster et al., 2018).

Se ha encontrado que la administración i.p. de ketamina tiene efectos protectores sobre las crisis convulsivas en el modelo de PTZ (McCarthy et al. 1965; Ghasemi et al., 2010). Al administrar un antagonista NMDA más específico, como MK-801, se ha visto el mismo efecto, suprimiendo las crisis convulsivas inducidas y aumentando el umbral de aparición a la primera crisis en modelos de estimulación eléctrica, PTZ y bicuculina (Sharma et al., 1991; Schneider y Rodríguez, 2013). Nuestros resultados muestran que la administración i.c.v provocó un aumento en el número y duración de las crisis convulsivas, sin mostrar cambios significativos en la latencia. Además de presentar crisis más graves por una reducción de la supervivencia. Lo que sugiere que una administración i.c.v puede tener efectos más específicos al actuar directamente sobre el bloqueo de los receptores NMDA en interneuronas GABAérgicas del NRT, a comparación de una administración i.p. que actuaría de forma más general en el SNC.

Se sabe que las células TC y del NRT interactúan para la generación de husos de sueño, una disfunción de este circuito conduciría a la forma patológica de estas ondas lentas, conocidas como DEO (Tallavajhula et al., 2012; Sitnikova et al., 2021). Al administrar un antidepresivo como la vortioxetina en ratas WAG/Rij, se agravaron las crisis de ausencia, por un aumento de la duración y número de DEO, mientras que en un modelo de PTZ redujo la gravedad y frecuencia de los picos en el EEG (Aygún et al. 2021). Las características electrográficas previo a la aparición de una crisis convulsiva muestran una disminución en el número y duración de DEO (Lai et al., 2023). Esto se relaciona con los hallazgos de este trabajo, donde encontramos que las DEO se eliminaron por completo en la mayoría de los animales tratados con ketamina, produciendo un aumento en la gravedad de las crisis convulsivas. Esto podría explicarse por la inhibición al NRT, provocando una reducción de la sincronización del bucle cortico-tálamo-cortical, responsable de la generación de DEO. Un efecto contrario se observa con la administración de un antagonista GABAérgico en el NRT que facilitó la aparición de DEO, esto se podría explicar por una hipersincronía en el bucle cortico-tálamo-cortical (Aker et al., 2006).

La sincronización del EEG supone el trabajo de varios grupos de neuronas en simultaneo caracterizado por ondas de gran voltaje, mientras que la desincronización es la interrupción de estas oscilaciones sustituyéndose por ritmos lentos y de bajo voltaje (Steriade y Llinás, 1988). La ausencia de crisis se ha relacionado con una desincronización de los grupos de neuronas mientras que la generación y propagación de las crisis convulsivas a la sincronización (Moxon, 2019).

Se ha descrito que las frecuencias theta de alta potencia predominan durante la transición a las crisis convulsivas, esta frecuencia se reduce de 4-10 Hz a 4-8 Hz antes del inicio de la crisis convulsiva (Moxon et al., 2019). En la administración de ketamina se ha reportado dos fases de la actividad theta: 1) pérdida de ritmo de frecuencias theta altas (6-14 Hz) y 2) actividad theta rítmica persistente (4-6hz) (Machado, 2022), que corresponde con una predominancia de las frecuencias de 5 a 9 Hz, luego de cinco minutos de administrar ketamina s.c. (Mahdavi et al., 2020). Nuestros resultados mostraron un acoplamiento hacia las frecuencias theta bajas de 4 a 8 Hz, que corresponden con la facilitación de las crisis convulsivas debido a la sincronización de estas oscilaciones, el efecto contrario se ha reportado con ausencia de crisis por una desincronización de la actividad theta al aplicar estimulación cerebral profunda (ECP) en el núcleo talámico anterior (Scherer et al., 2020), y una disminución de las DEO, similar a lo encontrado por Sorokin et al., 2017. Esto puede deberse a que las neuronas GABAérgicas marcan la generación de la actividad theta (Moxon, 2019). y al bloquearlas en el NRT por la ketamina vemos una facilitación de las crisis convulsivas.

En el rango de las frecuencias beta (13-30 Hz) la ketamina vía s.c. provoca un aumento en estas oscilaciones en la corteza y el tálamo (Anderson et al., 2017; Qin, 2023). Se ha visto que las frecuencias beta altas de 20 a 40 Hz pueden facilitar la propagación de la actividad corticocortical y se relacionan positivamente con la aparición de DEO, lo que podría reflejarse como una mayor actividad excitatoria como una alteración de la dinámica de CTC (Sorokin et al., 2017). Nuestros hallazgos muestran que la ketamina i.c.v modula las frecuencias beta bajas de 13 a 21 Hz aumentando su aparición en ausencia de DEO, lo que podría hablar de un efecto específico según la zona de administración. Sabemos que la generación de la

actividad beta está ligada a NMDA y GABA, nosotros al bloquear el componente GABAérgico en el NRT podemos sugerir que NMDA es el responsable de generar un aumento de las frecuencias beta bajas (13-21 Hz) que se relaciona con un aumento en las frecuencias inferiores a 30 Hz ligado a la actividad preictal (Fahoum et al., 2013; Uhlhaas et al., 2008).

La actividad de frecuencias gamma bajas de 30 a 48 Hz aumenta en la corteza y núcleos talámicos cuando se administra ketamina i.p. y s.c. en ratas anestesiadas y despiertas (Amat-Foraster et al., 2018; Amat-Foraster et al., 2019; Qin, 2023). Se ha visto que en un modelo de crisis de ausencia la actividad gamma puede ejercer un efecto protector contra las crisis convulsivas (Marrosu et al., 2006). Nosotros encontramos una disminución de la actividad gamma de 30 a 42 Hz, que corresponde al bloqueo de los receptores NMDA que contienen la subunidad NR2C, impidiendo el posible efecto protector de este tipo de oscilaciones. Esto podría explicarse por la afinidad a la ketamina al receptor NR2C, el cual se expresa en las células NMDA del NRT, siendo más específico el efecto por la administración i.c.v. (Mao et al., 2020).

Se ha identificado que las CGTC exhiben dos fases, tónica (de tallo cerebral) y clónica (de corteza), y que la presencia de ambas se asocia con una mayor gravedad de las crisis convulsivas. La escala de Racine (1972) evalúa la fuerza de las crisis en ratas en cinco puntos, siendo el estadio cinco la de mayor gravedad, caracterizada por: contracción y extensión en las extremidades anteriores, caídas y saltos salvajes, y en última instancia la muerte. En humanos la aparición de CGTC se acompaña en su mayoría de muerte súbita inesperada en epilepsia, que se correlaciona con la presencia y duración de la fase tónica (Tao et al., 2013). Nuestros resultados mostraron que una fase tónica prolongada en el tiempo sugiere una mayor probabilidad de muerte. Al inhibir la actividad glutamatérgica en el NRT se podría modular la actividad del tallo cerebral hacia una inhibición retrógrada impidiendo que se regule, facilitando la aparición de crisis convulsivas con muerte.

Conclusión

Con este trabajo podemos concluir que la microinyección de ketamina en el NRT facilitó la aparición de crisis convulsivas en un modelo de PTZ. Esto nos sugiere el papel que puede tener el NRT, no sólo en crisis de ausencia, sino también en crisis generalizadas tónico clónicas.

El complejo NMDA en el NRT puede estar asociado con la facilitación de DEO y su inactivación por el antagonismo de la ketamina ayuda a la propagación de la actividad convulsiva.

Referencias

- Aker, R. G., Özyurt, H. B., Yananli, H. R., Özgür Çakmak, Y., Özkaynakçı, A. E., Sehirli, Ü., Saka, E., Çavdar, S., & Onat, F. Y. (2006). GABAA receptor mediated transmission in the thalamic reticular nucleus of rats with genetic absence epilepsy shows regional differences: Functional implications. *Brain Research*, 1111(1), 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.06.118>
- Akyuz, E., Polat, A., Eroglu, E., Kullu, I., Angelopoulou, E. y Paudel, Y. (2021). Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sciences*, 265.3 <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118826>
- Amat-Foraster, M., Celada, P., Richter, U., Jensen, A. A., Plath, N., Artigas, F., & Herrik, K. F. (2019). Modulation of thalamo-cortical activity by the NMDA receptor antagonists ketamine and phencyclidine in the awake freely-moving rat. *Neuropharmacology*, 158. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107745>
- Amat-Foraster, M., Jensen, A. A., Plath, N., Herrik, K. F., Celada, P., & Artigas, F. (2018). Temporally dissociable effects of ketamine on neuronal discharge and gamma oscillations in rat thalamo-cortical networks. *Neuropharmacology*, 137, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.022>
- Anderson, P. M., Jones, N. C., Brien, T. J. O., & Pinault, D. (2017). The N-Methyl-D-Aspartate Glutamate Receptor Antagonist Ketamine Disrupts the Functional State of the Corticothalamic Pathway. *Cerebral Cortex*, 27, 3172–3185. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw168>
- André, V., Pineau, N., Motte, J., Marescaux, C. y Nehlig, A. (1998). Mapping of neuronal networks underlying generalized seizures induced by increasing doses of pentylenetetrazol in the immature and adult rat: a c-Fos immunohistochemical study. (10). 2094-2106. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00223.x>

Avoli M. (2012). A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia*, 53(5), 779–789. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03421.x>

Aygun, H., & Ayyildiz, M. (2021). Epilepsy & Behavior Vortioxetine increases absence-like seizures in WAG / Rij rats but decreases penicillin- and pentylenetetrazole-induced seizures in Wistar rats. *Epilepsy & Behavior*, 116, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.107797>

Beenhakker, M., & Huguenard, J. (2009). Neurons that fire together also conspire together: is normal sleep circuitry hijacked to generate epilepsy?. *Neuron*, 62(5), 612–632. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.015>

Blauwblomme, T., Jiruska, P. y Huberfeld, G. (2014). Mechanism of ictogenesis. *International review of neurobiology*. (114). 155-185. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-418693-4.00007-8>

Brailowsky, S. (1999). Epilepsia. Enfermedad sagrada del cerebro. Fondo de cultura económica.

Campos, G., Fortuna, A., Falcao, A. y Alves, G. (2018). In vitro and in vivo experimental employed in the discovery and development of antiepileptic drugs for pharmaco-resistant epilepsy. *Epilepsy research*. (146). 63-86. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.07.008>

Clemente-Perez, A., Makinson, S., Higashikubo, B., Brovarney, S., Cho, F., Urry, A., Holden, S., Wimer, M., Dávid, C., Fenno, L., Acsády, L., Deisseroth, K., y Paz, J. (2017). Distinct Thalamic Reticular Cell Types Differentially Modulate Normal and Pathological Cortical Rhythms. *Cell reports*, 19(10), 2130–2142. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.05.044>

Contreras-Murillo, G. y Magdaleno-Madriral, V. (2020). The thalamic reticular nucleus: A common nucleus of neuropsychiatric diseases and deep brain

stimulation. *Journal of Clinical Neuroscience*. 73, 1-7.
<https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.01.061>

Coyle, J. T. (2012). NMDA receptor and schizophrenia: A brief history. *In Schizophrenia Bulletin*. 38(5), 920–926. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs076>

Crabtree, J. (2018). Functional Diversity of Thalamic Reticular Subnetworks. *Frontiers in systems Neuroscience*, 12(41), 1-18.
<https://doi.org/10.3389/fnsys.2018.00041>

Dhir, A. (2012). Pentylentetrazol (PTZ) Kindling Model of Epilepsy. *Current protocols in neuroscience*. Capítulo 9, Unidad 9.37.
<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0937s58>

Dupuis, N., Enderlin, J., Thomas, J., Desnous, B., Dournaud, P., Allorge, D. y Auvin, S. (2017). Anti-ictogenic and antiepileptogenic properties of perampanel in mature and immature rats. *Epilepsia*, 58(11), 1985–1992.
<https://doi.org/10.1111/epi.13894>

Falco-Walter, J., Scheffer I. y Fisher, R. (2018). The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy research*. (139). 73-79.
<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.11.015>

Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Jr, Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 55(4), 475–482.
<https://doi.org/10.1111/epi.12550>

Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 522-530.
<https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/epi.13670>

- Fuentealba, P. y Steriade, M. (2005). The reticular nucleus revisited: Intrinsic and network properties of a thalamic pacemaker. *Progress in Neurobiology*, 75(2), 125-141. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.01.002>
- Galanopoulou, A. y Moshé, S. (2014). Epilepsy; experimental models. *Elsevier*. (2). 205-209. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.00285-2>
- García, M., García, I. y Matías, J. (2010). Modelos experimentales en epilepsia. *Neurología*. 25(3). 181-188. <https://www.elsevier.es/es-revista-neurologia-295-articulo-modelos-experimentales-epilepsia-S0213485310700074>
- Ghasemi, M., Shafaroodi, H., Nazarbeiki, S., Meskar, H., Ghasemi, A., Bahremand, A., Ziai, P. y Dehpour, A. (2010). Inhibition of NMDA receptor/NO signaling blocked tolerance to the anticonvulsant effect of morphine on pentylentetrazole-induced seizures in mice. *Epilepsy Research*, 91(1), 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2010.06.010>
- Ghasemi, M., Shafaroodi, H., Nazarbeiki, S., Meskar, H., Heydarpour, P., Ghasemi, A., Talab, S. S., Ziai, P., Bahremand, A., & Dehpour, A. R. (2010). Voltage-dependent calcium channel and NMDA receptor antagonists augment anticonvulsant effects of lithium chloride on pentylentetrazole-induced clonic seizures in mice. *Epilepsy and Behavior*, 18(3), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2010.04.002>
- Gil-Nagel, A. y García, I. (2007). Etiopatogenia y fisiopatología de la epilepsia. *Medicine*. 9(75). 4806-4813. [https://doi.org/10.1016/S0211-3449\(07\)75452-8](https://doi.org/10.1016/S0211-3449(07)75452-8)
- Hassel, B. y Dingledine, R. (2012). Glutamate and Glutamate Receptors. En S. Brady, G. Siegel, R. Albers y D. Price (8a edición). *Basic Neurochemistry. Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology* (342-366). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374947-5.00017-1>
- International League Against Epilepsy. (15 de Julio de 2022). EpilepsyDiagnosis.org Diagnostic Manual. <https://www.epilepsydiagnosis.org/?locale=es>

- Kaeberle, J. (2018). Epilepsy disorders and treatment modalities. *Chronic Disease Management*. 33(6). 342-344. <https://doi.org/10.1177/1942602X18785246>
- Kandratavicius, L., Alves, P., Lopes, C., Naime, R., Henrique, E., García, N., Bueno, L. y Pereira, J. (2014). Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment*. (10). 1693-1705. <http://dx.doi.org/10.2147/NDT.S50371>
- Lai, N., Li, Z., Xu, C., Wang, Y., & Chen, Z. (2023). Neurobiology of Disease Diverse nature of interictal oscillations: EEG-based biomarkers in epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 177, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.105999>
- Lüttjohann, A. y Van Luijtelar, G. (2022). The role of thalamic nuclei in genetic generalized epilepsies. *Epilepsy research*. (182). 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.106918>
- Mahdavi, A., Qin, Y., Aubry, A. S., Cornec, D., Kulikova, S., & Pinault, D. (2020). A single psychotomimetic dose of ketamine decreases thalamocortical spindles and delta oscillations in the sedated rat. *Schizophrenia Research*, 222, 362–374. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.04.029>
- Mao, Z., He, S., Mesnard, C., Synowicki, P., Zhang, Y., Chung, L., Wiesman, A. I., Wilson, T. W., & Monaghan, D. T. (2020). NMDA receptors containing GluN2C and GluN2D subunits have opposing roles in modulating neuronal oscillations; potential mechanism for bidirectional feedback. *Brain Research*, 1727. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146571>
- Mares, P. y Kubová, H. (2021). Perampanel exhibits anticonvulsant action against pentylentetrazol-induced seizures in immature rats. *Epilepsy Research*, 169. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106523>
- Marrosu, F., Santoni, F., Fà, M., Puligheddu, M., Barberini, L., Genugu, F., Frau, R., Manunta, M., & Mereu, G. (2006). Beta and gamma range EEG power-spectrum correlation with spiking discharges in DBA/2J mice absence model:

Role of GABAB receptors. *Epilepsia*, 47(3), 489–494.
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00456.x>

McCarthy, D., Chen, G., Kaump, D. y Ensor, C. (1965). General anesthetic and other pharmacological properties of 2-(o-chlorophenyl)-2-methylamino cyclohexanone HCL (CI-58L). *The Journal of New Drugs*, 28, 21–33.
<https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1965.tb00219.x>

McCormick, D. y Bal, T. (1997). SLEEP AND AROUSAL: Thalamocortical Mechanisms. *Annual Review of Neuroscience*, 20(1), 185-215.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.20.1.185>

McGuinness, I., Abou, B., Rubinov, M. y Gallagher, M. (2022). Network connectivity in primary generalized tonic-clonic seizures. *Clinical neurophysiology*. (132). 97-107. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2022.02.024>

Morales, F., Correa, J., Saavedra, M., Acosta, M., Gasca, E., Pérez, A. y Trujillo, J. (2012). Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante. *Archivos de neurociencias*. 17(1). 45-48. <https://www.medigraphic.com/pdfs/arcneu/ane-2012/ane121d.pdf>

Moxon, K. A., Shahlaie, K., Girgis, F., Saez, I., & Gurko, G. G. (2019). Neurobiology of Disease From adagio to allegretto : The changing tempo of theta frequencies in epilepsy and its relation to interneuron function. *Neurobiology of Disease*, 129, 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.02.009>

Pack, A. (2019). Epilepsy overview and revised classification of seizures and epilepsies. *American academy of neurology*. 25(2). 306-321.
<https://doi.org/10.1212/con.0000000000000707>

Paxinos, G., Watson, C. (2007). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates (6th Edition). *Elsevier Academic Press*, San Diego.

Qin, Y., Mahdavi, A., Bertschy, M., Anderson, P. M., Kulikova, S., & Pinault, D. (2023).

The psychotomimetic ketamine disrupts the transfer of late sensory information in the corticothalamic network. *European Journal of Neuroscience*, 57(3), 440–455. <https://doi.org/10.1111/ejn.15845>

Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H., & Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512–521. <https://doi.org/10.1111/epi.13709>

Scherer, M., Milosevic, L., Guggenberger, R., Maus, V., Naros, G., Grimm, F., Bucurenciu, I., Steinhoff, B. J., Weber, Y. G., Lerche, H., Weiss, D., Rona, S., & Gharabaghi, A. (2020). Desynchronization of temporal lobe theta-band activity during effective anterior thalamus deep brain stimulation in epilepsy. *NeuroImage*, 218. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116967>

Schneider, P. G., Rodríguez, G., & Arnaiz, D. L. (2013). Neurochemistry International Ketamine prevents seizures and reverses changes in muscarinic receptor induced by bicuculline in rats. *NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL*, 62(3), 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.12.013>

Sharma, A. C., Thorat, S. N., Ar, U. N. A. Y., & Kulkarni, S. K. (1991). DIZOCILPINE , KETAMINE AND ETHANOL REVERSE NMDA-INDUCED EEG CHANGES AND CONVULSIONS IN RATS AND MICE. *Indian Journal Pshysiology Pharmacology*, 35(2), 111–116.

Shin, S. (2006). T-type Ca²⁺ channels and absence epilepsy. *Cell Calcium*, 40(2), 191-196. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2006.04.023>

Sorokin, J. M., Paz, J. T., & Huguenard, J. R. (2018). Absence seizure susceptibility correlates with pre-ictal β oscillations. *Journal of Ps*, 110, 372–381. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2017.05.004.Absence>

- Steriade, M. (1986). Reticularis Thalami Neurons Revisited: Activity Changes During Shifts in States of Vigilance. *The Journal of Neuroscience*, 6(1), 68-61. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.06-01-00068.1986>
- Steriade, M. (2005). Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends in Neurosciences*, 28(6). 317-324. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.03.007>
- Takata, N. (2020). Thalamic reticular nucleus in the thalamocortical loop. *Neuroscience Research*, 156. 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2019.12.004>
- Tallavajhula, S. S., & Slater, J. D. (2012). Sleep and Epilepsy. *In Sleep Medicine Clinics* 7(4), 619–630 <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2012.10.001>
- Tao, J. X., Yung, I., Lee, A., Rose, S., Jacobsen, J., & Ebersole, J. S. (2013). Tonic phase of a generalized convulsive seizure is an independent predictor of postictal generalized EEG suppression. *Epilepsia*, 54(5), 858–865. <https://doi.org/10.1111/epi.12094>
- Troyano-Rodriguez, E., Lladó-Pelfort, L., Santana, N., Teruel-Martí, V., Celada, P., & Artigas, F. (2014). Phencyclidine inhibits the activity of thalamic reticular gamma-aminobutyric acidergic neurons in rat brain. *Biological Psychiatry*, 76(12), 937–945. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.05.019>
- White, H., Johnson, M., Wolf, H., Kupferberg, H. (1995). The early identification of anticonvulsant activity: role of the maximal electroshock and subcutaneous pentylentetrazol seizure models. *Italian journal of neurological sciences*. 16, 73–77. <https://login.pbidi.unam.mx:2443/login?qurl=https://link.springer.com%2farticle%2f10.1007%2fBF02229077>
- Zavala-Tecauapetla, C. y Lopez-Meraz, M. (2011). Modelos experimentales de epilepsia en ratas en desarrollo. *Revista eNeurobiología*, 2(2), 1-16. <https://www.researchgate.net/publication/235978879>

Zhang, Y., Llinas, R. R., & Lisman, J. E. (2009). Inhibition of NMDARs in the nucleus reticularis of the thalamus produces delta frequency bursting. *Frontiers in Neural Circuits*, 3(NOV). <https://doi.org/10.3389/neuro.04.020.2009>