



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

LA ACTIVIDAD EPILEPTOGENICA INDUCIDA EN LA  
RATA MALNUTRIDA. EFECTOS SOBRE LOS  
PROCESOS DE DESARROLLO Y CONSOLIDACIÓN  
DE LA COMUNICACIÓN NEURAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGA**

P R E S E N T A :

**ILEANA MONDRAGÓN GARCÍA**

TUTORA:

**DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ**

**2009**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## HOJA DE DATOS DEL JURADO

### 1.-Datos del alumno

Mondragón

García

Ileana

29 76 04 63

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de ciencias

Biología

402013435

### 2.-Datos del tutor

Dra.

Pilar

Durán

Hernández

### 3.- Datos del sinodal 1

Dr.

Manuel

Miranda

Anaya

### 4.-Datos del sinodal 2

Dr.

León Federico

Cintra

McGlone

### 5.-Datos del sinodal 3

Dra.

Leticia

Granados

Rojas

### 6.-Datos del sinodal 4

M. en C.

Enrique

Moreno

Saenz

### 7.-Datos del trabajo escrito

La actividad epileptogénica inducida en la rata malnutrida.

Efectos sobre los procesos de desarrollo y consolidación de la comunicación neural.

## **A G R A D E C I M I E N T O S**

Agradezco a la Dra. Pilar Durán por darme la libertad de plantearme mis propias preguntas, agradezco el apoyo y la paciencia que me ha tenido a lo largo de todo este proceso. Al Dr. Manuel Miranda por ser mi maestro, por la ayuda y la confianza brindada y al Dr. Enrique Moreno por su tiempo, guía y empatía. A los tres estimo y admiro enormemente.

Al Dr. León Cintra y a la Dra. Leticia Granados agradezco sus comentarios y sugerencias en la revisión de este trabajo.

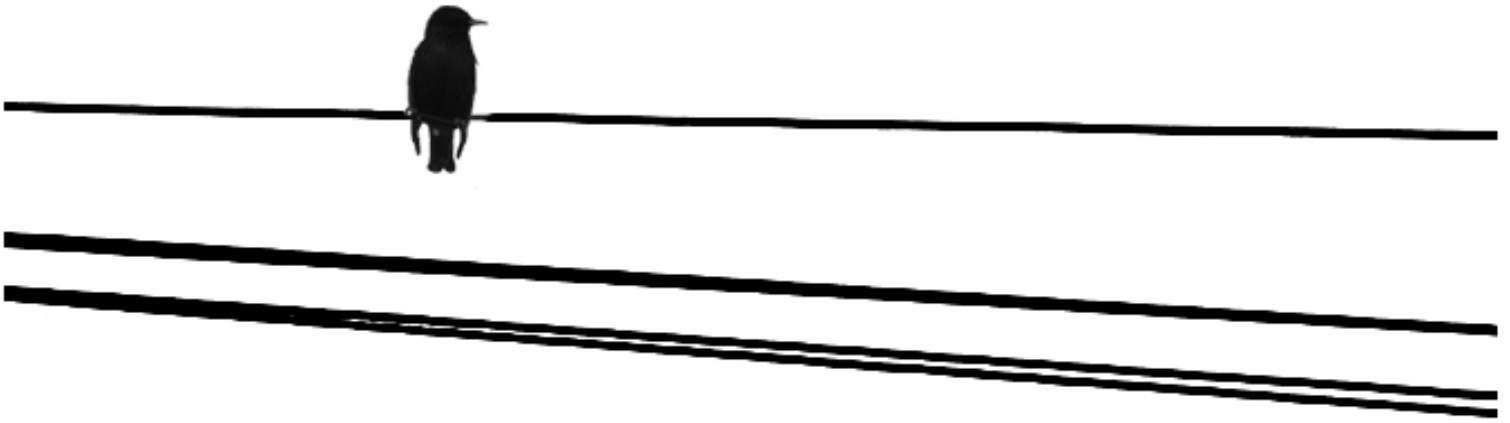
A mis padres agradezco todo en la vida. A mi hermana por ser quien es y por ser quien es conmigo.

A mi familia extendida, los Sandoval, a mi mamá temporal, Silvia, y a mis hermanos electivos: Bere, Mariana, Memo, a Sergio a quien le estoy en deuda por ayudarme desde el principio y a Carlos por lo que ni se da cuenta.

A mis amigos, los nuevos, los viejos y los de siempre por todos los buenos momentos.

A la mucha gente que he conocido y de las que he aprendido cosas valiosas.

A la UNAM por ser mi casa.



## PARA ARENA

*"No station is final"*  
y eso no hay que olvidarlo **nunca**.

Y algo que se aprende con el tiempo y que ya alguien más lo ha dicho mejor que yo: No siempre se tiene lo que se quiere, pero si lo intentas te darás cuenta que tienes justo lo que necesitas. . . Y no se necesitan gotitas de felicidad cuando te tienes a tí mismo.

# ÍNDICE

## **Introducción**

Ubicación del problema en el contexto de la investigación actual y el propósito del trabajo de tesis.....	1
---	---

## **Antecedentes**

-El desarrollo del Sistema Nervioso Central en mamíferos altriciales.....	4
-Periodos críticos del desarrollo cerebral.....	5
-Factores que afectan el desarrollo cerebral.....	5
-La malnutrición y el desarrollo del Sistema Nervioso Central.....	8
-Generalidades de la Epilepsia y de las crisis generalizadas.....	12
-Organización del ciclo de sueño y vigilia.....	13
-Sueño de Ondas Lentas (SOL).....	15
-Sueño de Movimientos Oculares Rápidos (MOR).....	17
-Vigilia.....	19
-Estados de vigilancia y malnutrición.....	20
-Estados de vigilancia y epileptogénesis.....	21
-Malnutrición y Epilepsia.....	22
-Modelos Experimentales.....	26

## **Hipótesis.....**

## **Objetivos**

Objetivos Generales.....	26
Objetivos Particulares.....	

## **Material y Método**

Animales.....	28
Método de malnutrición.....	

Dietas.....	29
“Kindling” farmacológico.....	30
Registro	
Implante de electrodos.....	32
Estimulación de manutención.....	32
Condiciones previas al registro.....	33
Registro de la actividad eléctrica.....	33
Registro conductual.....	33
Análisis de datos	
Evaluación de la conducta y estados de vigilancia.....	34
Análisis de los estados de vigilancia.....	35
Análisis de la actividad eléctrica epileptiforme.....	35
Análisis espectral.....	36
Análisis estadístico.....	37
Análisis de patrones conductuales.....	37
<b>Resultados</b>	
Análisis conductuales.....	40
Arquitectura general de sueño.....	43
Actividad epileptiforme.....	45
Actividad epileptiforme y estados de vigilancia.....	47
Espectros de potencia.....	49
Correlación inter e intra hemisférica.....	52
<b>Discusión.....</b>	<b>57</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>66</b>
<b>Apéndice.....</b>	<b>67</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>72</b>

## INTRODUCCIÓN

*-Ubicación del problema en el contexto de la investigación actual y el propósito del trabajo de tesis.*

Hoy en día existe una gran cantidad de enfermedades y condiciones adversas que azotan a las poblaciones humanas, la mala nutrición y los padecimientos neurológicos son de los más relevantes.

La malnutrición es el esquema alimentario en el cual uno de los componentes de la dieta (proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y elementos traza) se encuentra disminuido o en exceso al patrón nutricional normal creando así un desequilibrio. Es el desequilibrio nutricional más común por lo que es uno de los problemas de salud pública más graves en el mundo. De acuerdo con el Programa Mundial de Alimentos de la ONU, en el mundo el 16% de la población total se encuentra en problemas de alimentación deficiente y los países con más altos índices de ineficiencia alimentaria son los países en desarrollo, como México. La malnutrición en países en desarrollo es uno de los mayores factores de riesgo para aparición de enfermedades y mortandad ya que aumenta la susceptibilidad y severidad de infecciones y genera desequilibrios mentales y físicos (Müller & Krawinkel 2005, Castañón-Cervantes & Cintra 2002). Las alteraciones o deficiencias en la dieta instalada en edades tempranas repercuten en la estabilidad y bienestar del organismo tanto durante en el desarrollo como en su madurez, siendo el Sistema Nervioso Central (SCN) uno de los sistemas más vulnerables a este tipo de insulto (Morgane et al. 1993). Se han observado y asociado a la malnutrición deficiencias en las capacidades físicas, motrices y cognitivas en humanos por lo que se ha estudiado el efecto que tiene esta variable sobre distintos sistemas y funciones utilizando modelos nutrimentales animales (Aguilar-Roblero et al. 1997,



Alfaro-Rodríguez et al. 2006, Austin et al. 1992, Austin-Lafrance et al. 1991, Bonatto et al. 2005, Morgane et al. 1993).

La epilepsia, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud es uno de los 5 desordenes neurológicos con mayor prevalencia, incidencia y mortandad en el mundo., aproximadamente el 85% de los epilépticos residen en países en desarrollo. (Burneo et al. 2005; Pal et al. 2000). Este padecimiento se caracteriza por la generación de olas de disparos neuronales sincrónicos, patológicos, espontáneos y recurrentes en el cerebro. Los distintos síndromes epilépticos o la actividad epileptiforme en distintos núcleos cerebrales genera daño a nivel celular que puede resultar en modificaciones a mediano o largo plazo en la bioquímica (Bolaris et al. 2005, De Luca et al. 2005, ), fisiología (Dinner et al. 2001, Nehlig et al. 2006 ), anatomía (Brandt et al. 2004) y/o en la función (Becker et al. 1997, Hannesson et al. 2004) del (los) grupo (s) neuronal (es) afectados, repercutiendo en el buen funcionamiento del SNC en conjunto. Se calcula que 1 de cada 10 personas presenta al menos un evento epiléptico durante su vida y se estima que la proporción de incidencia de síndromes epilépticos formales es mayor en los países en desarrollo que en los países industrializados (Brailowsky 1999; Burneo et al. 2005), y se ha sugerido que una nutrición inadecuada podría influenciar positivamente la aparición de eventos y/o focos epilépticos en pacientes en los países en desarrollo (Galanopoulou et al. 2002) Al ser un padecimiento de gran relevancia para las poblaciones humanas se han hecho grandes esfuerzos para estudiar los efectos que tiene la aparición de focos epilépticos o la actividad eléctrica epileptiforme en la integridad del SNC animal.

La malnutrición y los eventos epileptiformes impactan de manera negativa la integridad funcional del Sistema Nervioso Central y por lo mismo han sido tema de una gran cantidad

de estudios; sin embargo, hay pocos estudios concernientes a los efectos de la actividad eléctrica epileptiforme o ictal en procesos cerebrales previamente afectados por la malnutrición. Es importante, utilizando la información conocida sobre ambos temas, conocer cuál es el efecto que tienen éstas variables, actuando de manera conjunta, en la integridad de la función cerebral dado que alteran la actividad eléctrica cerebral de manera distinta y por lo tanto tienen repercusiones distintas en la homeostasis animal. Por otro lado el sueño es uno de los ritmos circadianos más estudiados ya que es un ritmo para la recuperación física y mental animal (Foster et al. 2005). Es un ritmo evolutivamente conservado en vertebrados y los patrones electroencefalográficos son distintivos entre la demás actividad eléctrica cerebral (Frank et al. 2003). La estabilidad en la arquitectura del sueño se ha utilizado como un índice de integridad fisiológica ya que es vulnerable a eventos patológicos (Morgane et al. 1993).

El propósito principal de este trabajo es determinar los efectos que tienen la malnutrición y la presencia de actividad eléctrica epileptiforme en el sueño de la rata adulta para comenzar a indagar los mecanismos en los que la malnutrición puede alterar el lecho neurológico maduro para la aparición de una enfermedad neurológica secundaria y sus efectos posteriores.

## **ANTECEDENTES**

### *- El desarrollo del Sistema Nervioso Central en mamíferos altriciales.*

Las especies altriciales, a diferencia de las especies precociales, son aquellas que se caracterizan por nacer de manera prematura en relación a su desarrollo y madurez. El humano así como una gran cantidad de mamíferos (entre ellos la rata), aves, y ciertas especies de reptiles son especies altriciales, las cuales tienen largos períodos de desarrollo y aprendizaje post natal. Normalmente nacen desnudos con un sistema nervioso, gástrico, inmune, entre otros, en un grado muy alto de inmadurez, por lo que los neonatos presentan períodos de gran vulnerabilidad y los cuidados postnatales son de vital importancia.

### *-Períodos críticos del desarrollo cerebral*

El cerebro en desarrollo es un órgano que requiere de una gran estimulación tanto ambiental como genética y hormonal. Estos estímulos son de gran importancia ya que permiten el correcto desarrollo del Sistema Nervioso y además aseguran la integridad de sus funciones. Estas estimulaciones se realizan en intervalos específicos de tiempo llamados períodos críticos, durante los cuales el SNC es sensible a la estimulación y lleva a cabo de manera puntual y concreta tareas de plasticidad. Los períodos críticos son aquellos en los cuales se da el mayor crecimiento y ramificación dendrítica, crecimiento axonal, sinaptogénesis, migración neuronal y diferenciación de linajes neuronales y establecimiento fenotípico (Purves et al. 2004; Kandel et al. 2001).

Al ser eventos de gran importancia y repercusión en el funcionamiento integral del SNC maduro, se ha encontrado que la falta de estimulación o insultos de diversa índole durante los períodos críticos resulta en el deterioro de las estructuras en desarrollo y

subsecuentemente su función (Aguilar-Roblero et al. 1997, Austin et al. 1992, Chen et al. 1997, Durán et al. 2005, Morgane et al. 1993). La gravedad radica en que la estimulación posterior no rehabilita o compensa completamente el insulto inicial (Alfaro-Rodríguez et al. 2006; Purves et al. 2004; Kandel et al. 2001; Siegel et al. 1999).

#### *-Factores que afectan el desarrollo cerebral*

Existen numerosos factores que pueden afectar el desarrollo cerebral, pero se ha sugerido que los más importantes son: la herencia (alteraciones genéticas), la complejidad y el grado de estimulación ambiental, y la nutrición (Morgane et al. 1993). La severidad de las repercusiones depende tanto del grado del insulto así como el tiempo de exposición a éste. Los efectos pueden resultar en reducciones en las poblaciones neuronales, asentamiento de neuronas en zonas anormales, crecimiento y arborización insuficientes e ineficaces, etcétera (Kandel et al. 2001, Bayer et al. 1993).

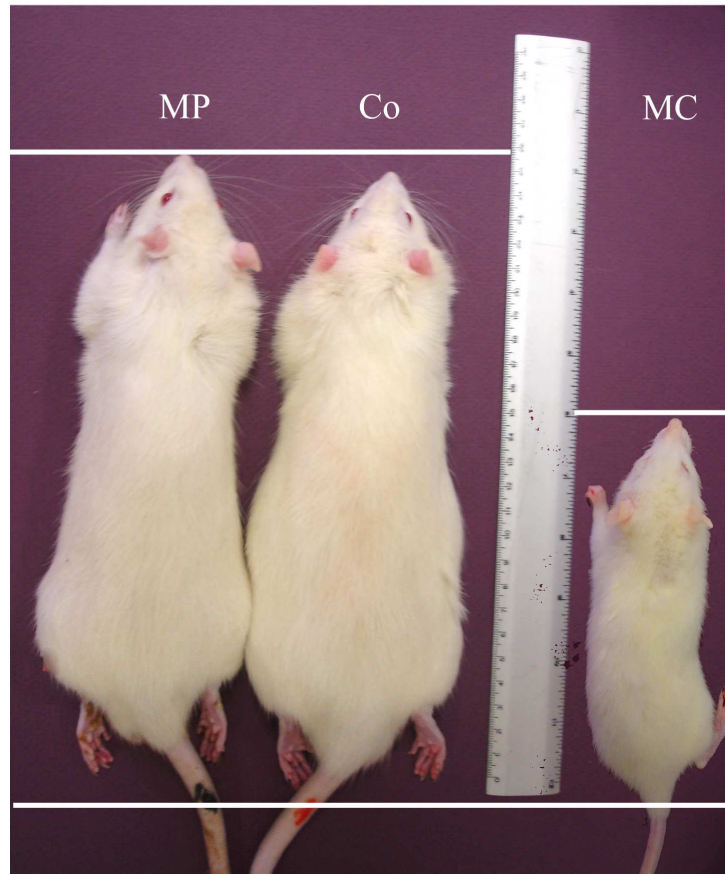
#### *-La malnutrición y el desarrollo del Sistema Nervioso Central*

La nutrición es uno de los factores con mayor trascendencia en el desarrollo y maduración del cerebro ya que a partir del aporte nutrimental es que el organismo en desarrollo obtiene la materia prima así como energía química para la construcción de sus propias moléculas y tejidos. La alteración del correcto aporte nutrimental por espacios prolongados de tiempo, especialmente durante los periodos críticos, tiene un gran impacto sobre el organismo (Bonatto et al. 2005; Lister et al. 2005; Castañón-Cervantes & Cintra 2002; Cintra et al. 2002; Bronzino et al. 1999; Aguilar-Roblero et al. 1997; Morgane et al. 1993). De los varios tipos de malnutrición, la gestacional es más común que la postnatal (Morgane et al. 1993) por lo que los efectos que tiene la deficiencia proteínica durante las

primeras etapas de desarrollo y diferenciación son críticos (Müller & Krawinkel 2005; Cintra et al. 2002; Morgane et al. 1993).

Se sabe que todos los componentes de la dieta contribuyen a la maduración del SNC, sin embargo, el aporte proteínico suele ser uno de los más importantes para el desarrollo adecuado de las estructuras cerebrales así como de su homeostasis. La malnutrición crónica (aquella que se mantiene en las etapas pre, peri y postnatal) en modelos animales como la rata, se utilizan para estudiar los efectos nocivos de esta variable que pudieran estar ocurriendo de manera natural en poblaciones humanas (Cintra et al. 2002; Morgane et al. 1993). El uso de la rata como modelo animal es de gran utilidad ya que los procesos generales de desarrollo cerebral equivalentes a los humanos lo que sirve como un buen punto de referencia (Bayer et al. 1993, Morgane et al. 1993).

Las ratas con malnutrición proteínica gestacional son mucho menores en talla y peso visceral, muscular y corporal total que los animales controles (Fortman et al. 2005, Reichling et al. 2000), tienen alteraciones metabólicas (Alfaro-Rodríguez et al. 2006, Bonatto et al. 2005, Chen et al. 1997, Schweigert et al. 2005) y conductuales importantes (Austin et al. 1992), y usualmente hay deficiencias en las capacidades cognitivas y alteraciones en conductas motoras (Aguilar-Roblero et al. 1997, Castañón-Cervantes et al. 2002, Durán et al. 2005) (**Fig. 1**).



**Figura 1-** Fotografía de ratas adultas de 90 días atendidas a diferentes regímenes nutrimentales durante el desarrollo. La rata a la izquierda, malnutrida prenatal (MP) presenta un tamaño corporal igual a la rata Control (CO) que se encuentra al centro. Sin embargo, la rata malnutrida crónica (MC) es significativamente mucho menor en talla a los 90 días de edad en comparación con las otras dos, debido al retraso y restricción de la división celular.

A nivel del SNC, se ha reportado que la malnutrición proteínica instalada durante los periodos de crecimiento rápido cerebral pre y posnatal altera las propiedades electrofisiológicas normales de las neuronas (Bronzino et al. 1999, Bronzino et al. 1986) , retrasa la división celular (Reichling et al. 2000), reduce el número neuronal (Granados-Rojas et al. 2002, Lister et al. 2005) modificando la proporción neuronas/glia, disminuye el largo, volumen y arborización neuronal (Morgane et al. 1993) , aumenta la vulnerabilidad a la oxidación y altera varios circuitos de relevo (Bonatto et al. 2005; Lister et al. 2005) y disminuye la mielinización (Aguilar-Roblero et al. 1997). Entre las estructuras que la

malnutrición afectan directamente están los núcleos del tallo cerebral, rafe dorsal y el *Locus coeruleus*, la formación hipocámpica y las áreas visual y temporal de la neocorteza (Lister et al. 2005). Se ha probado que la malnutrición proteínica prenatal afecta también la integridad anatómica (hipomielinización, división celular restringida, hipodendricación, etc.) y funcional del Núcleo Supraquiasmático (Cintra et al. 1994), regulador y marcapasos natural del ritmo endógeno de mamíferos y otros grupos animales superiores, por lo que la regulación homeostática del sueño y otros ritmos circadianos se ve alterado.

La malnutrición altera los procesos metabólicos de síntesis de lípidos y proteínas en el cerebro así como el catabolismo de ciertos aminoácidos aumentando los niveles de serotonina, dopamina y norepinefrina y disminuyendo los de Acetilcolina (ACh) y GABA (ácido  $\gamma$ -amino-butírico). Altera la síntesis de neurotransmisores peptídicos y altera el desarrollo de la inhibición tónica (Lister et al. 2005; Durán et al. 1999, 2002, 2004; Castañón-Cervantes & Cintra 2002; Bronzino et al. 1999; Chen et al. 1997).

### ***-Generalidades de la Epilepsia y de las Crisis Generalizadas***

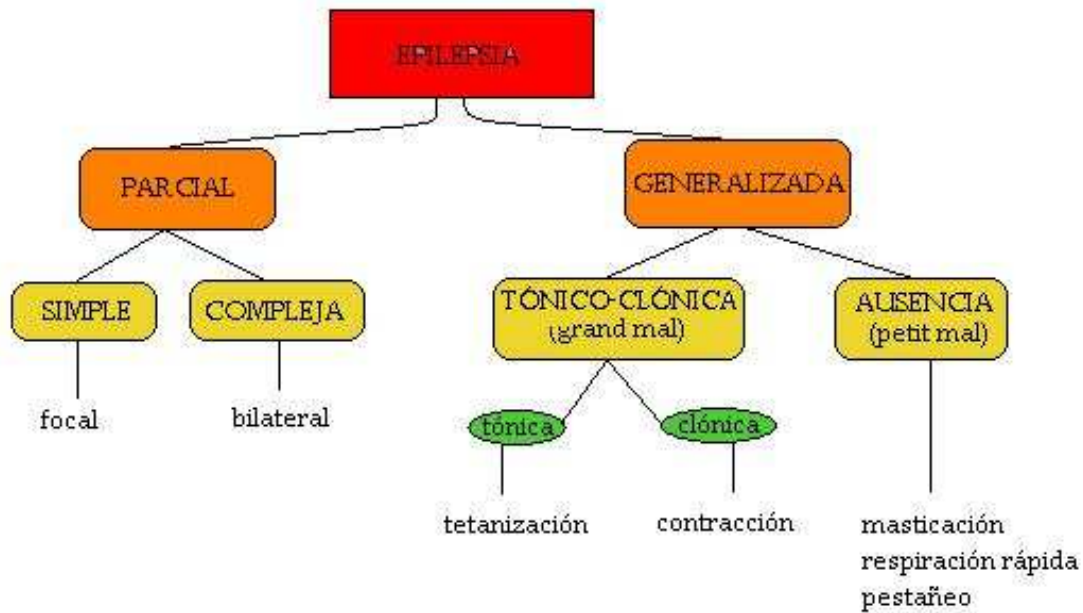
La epilepsia es una enfermedad neurológica caracterizada por descargas anormales e hipersincrónicas que generan olas masivas de actividad neuronal intensa en excitación sincronizada en poblaciones neuronales considerables. La hiperexcitabilidad se cree puede ser resultado de una estimulación excesiva o de la falta de inhibición (Steriade 2003; Dinner et al. 2001, Kandel et al. 2001, Brailowsky 1999).

Las crisis epilépticas pueden tener un origen idiopático o sintomático. La mayor cantidad de tipos de epilepsias idiopáticas son dependientes de la edad y suelen ser benignas. Las epilepsias sintomáticas pueden darse por acción de accidentes de nacimiento, desarrollo neurológico anormal, infecciones, enfermedades vasculares, trauma encefálico,

neurocisticercosis y otras enfermedades por parásitos (Brailowsky 1999, Galanopoulou et al. 2002, Pal et al. 2000), meningitis, malaria, tumores cerebrales, neurodegeneración, exposición a solventes y metales pesados (Arrieta et al. 2005), privación del sueño y malnutrición (Scott et al. 2001).

Debido a que tanto los mecanismos básicos de generación de las crisis son distintas en diferentes regiones cerebrales y la farmacología y fisiología no es uniforme en todas las áreas del cerebro y sus repercusiones pueden ser muy variables, es que existe una gran cantidad de síndromes epilépticos. Dependiendo del síndrome epiléptico que se presenta, varía tanto el sitio, la vía, las características etológicas y particularidades electrofisiológicas, por lo que convencionalmente se han caracterizado a partir de la extensión del área afectada como parciales o generalizadas. Las epilepsias se pueden dividir en epilepsias parciales, en las que el sitio de generación y activación neuronal es en un foco específico; o generalizadas en que las descargas generalizan y se dispersan a todo el cerebro. Las crisis parciales implican un foco específico, en las crisis parciales complejas los focos se encuentran en ambos lóbulos cerebrales. Las crisis generalizadas por otro lado pueden ser crisis petit-mal o crisis grand-mal. Las crisis de ausencia o petit mal se caracterizan por ser crisis en las cuales el evento epiléptico no tiene repercusión motora severa, sin embargo en las tónico-clónicas o de grand mal, la crisis resulta en convulsiones graves siendo tónicas si hay tetanización (contracción sostenida) y clónicas si hay contracciones (oscilaciones entre contracciones y relajaciones). Las crisis tónicas se caracterizan en el EEG por presentar espigas de alta amplitud y voltaje mientras que las crisis clónicas se pueden caracterizar por presentar patrones de espiga-onda (Brailowsky 1999). **(Fig.2)**





**Figura 2** Las epilepsias se pueden dividir en epilepsias parciales o generalizadas. Las epilepsias parciales se pueden subdividir en epilepsias parciales simples o parciales complejas. Las crisis se dividen en crisis de ausencia y en crisis tónico-clónicas las cuales varían en gravedad conductual.

Cada crisis es única y como cada neurona contribuye de manera diferente a ciertas corrientes durante las crisis es que cada crisis tiene un sustrato y actividad diferente (Timofeev et al. 2004).

Durante las crisis se desencadenan despolarizaciones repentinas grandes de larga duración. Cualquier desequilibrio o variación en los procesos de excitación e inhibición neuronal pueden llevar a la aparición de focos epilépticos aunque los más conocidos y más estudiados son aquellos en los que actúan GABA y glutamato, por ser los neurotransmisores inhibitor y excitador (respectivamente) con mayor concentración en el SNC y que tienen la mayor influencia en la aparición de éste tipo de actividad eléctrica epileptiforme (Kandel et al. 2001).

Anatómicamente los focos epilépticos pueden tener un origen heterogéneo. Ciertas crisis tienen un origen cortical y la propagación de la actividad ictal es mediada por la inhibición

de neuronas GABAérgicas de relevo por lo que ciertas áreas como el tálamo e hipotálamo quedan susceptibles a las descargas paroxísticas (Steriade et al. 2003). En el caso del hipocampo y demás estructuras límbicas se ha encontrado que existe una predisposición a la aparición de descargas epileptiformes espontáneas (Derchansky et al. 2004) y de umbrales de estimulación muy bajos (Szyndler et al. 2006) debido a una inhibición sináptica débil, una alta tasa de neurogénesis y alta probabilidad de liberación de neurotransmisores, por lo que es una estructura propensa a generación y establecimiento de focos epilépticos.

La propagación de los patrones epileptiformes al resto del cerebro en las epilepsias generalizadas involucran un alto grado de comunicación entre las neuronas del foco epiléptico normalmente a estructuras mesiales como el cuerpo calloso (Cissé et al. 2004), el septum (Derchansky et al. 2004) y el tálamo (Norden et al. 2002), los cuales mediante conectividad sináptica contralateral e intracortical permiten la generalización de las crisis. Los núcleos talámicos tienen efectos permisivos en la generación y propagación de las crisis por lo que se cree que una gran cantidad de los focos tienen un origen subcortical (Derchansky et al. 2004; Norden et al. 2002) aunque ciertos síndromes tienen un origen cortical (Cissé et al. 2004; Timofeev et al. 2004).

Durante las crisis generalizadas tónico-clónicas aumenta la presión arterial sistémica y de la glucosa sérica, hay alteraciones metabólicas como hipoxia, hipertensión, hipoglucemia y acidemia, se reducen los fosfatos de alta energía y puede repercutir en degeneración y muerte del tejido cerebral cuando se establece el *status epilepticus*, o el estado de emergencia de recurrencia convulsiva sin intervalos de descanso. La epilepsia puede generar un reorganización neuronal, como en hipocampo, similar a la producida por Potenciación a Largo Plazo (PLP) en la vía de mediación del comportamiento (Morimoto et

al. 2004), modifica la cantidad de receptores membranales a neurotransmisores excitadores y altera, en estadios tempranos del desarrollo, la correcta y eficiente sinaptogénesis en la actividad neuronal.

En el foco donde se generan los disparos iniciales, las neuronas tienen un comportamiento eléctrico definido como Desplazamiento Despolarizante Paroxístico (DDP) el cual es una despolarización repentina grande (20-40 mV) que se ve en el EEG como un potencial de acción de alta amplitud (Morimoto et al. 2004).

Los mecanismos de cese de disparo se han asociado a la activación de corrientes de potasio activados por la entrada de calcio y sodio, pérdida de gradiente iónico que lleva a un bloqueo membranar por inactivación de canales de sodio y posiblemente la disminución de los sustratos energéticos, como ATP, por el hipermetabolismo resultante del evento ictal (Lado et al.. 2008).

#### *-Organización del ciclo de sueño y vigilia.*

El ciclo sueño-vigilia es uno de los ritmos circadianos más estudiados. Se ha utilizado como un indicador de homeostasis fisiológica ya que además de ser constante y evidente, es un proceso fisiológico necesario para la recuperación y reestablecimiento del sistema, y es susceptible a variación por desequilibrios fisiológicos (Morgane et al. 1993). No se conoce con precisión el mecanismo mediante el cual el sueño mantiene la homeostasis física y mental de los organismos pero se sabe por diversos experimentos y estudios en roedores, gatos y humanos que la falta de éste repercute negativamente en el organismo (Foster 2005; Larkin et al. 2003; Marks et al. 1995). La ausencia de sueño afecta el reestablecimiento de la energía metabólica corporal, los procesos de consolidación de la memoria, procesos de aprendizaje, estados de vigilancia, la función inmunológica, los

estados emocionales, la síntesis de neurotrofinas, la plasticidad neuronal, fomenta anomalías metabólicas y hormonales y aumenta la propensión al desarrollo de enfermedades mentales además de alterar otros ritmos circadianos (Foster et al. 2005, Benington et al. 2003, Zamboni et al. 2001, Deboer et al. 2003, Hannesson et al. 2000). Así como la alteración en el sueño provoca cambios en la homeostasis, diversos factores que desestabilizan la integridad fisiológica resultan en descomposición o fragmentación de la arquitectura natural del sueño.

El ciclo sueño-vigilia está controlado y regulado por señales tanto ambientales como endógenas que desencadenan cambios fisiológicos y metabólicos que generan distintos comportamientos eléctricos que caracterizan a las diferentes etapas del ciclo sueño-vigilia (Dinner et al. 2001; Kandel et al. 2001). El sueño se genera y modula principalmente por ciertos núcleos en el tallo cerebral, los cuales promueven el estado de atención y vigilia; mientras que la interacción de los núcleos del cerebro anterior mantienen las distintas etapas de sueño (Dinner et al. 2001). Se ha encontrado que hay un disparo tónico de neuronas talámicas durante la vigilia y el SMOR (Llinás et al. 2006) aunque hay otras estructuras involucradas en la facilitación, estimulación y generación de los distintos ritmos y en la modulación de los estados de vigilancia. Cada etapa del ciclo sueño-vigilia presenta una actividad eléctrica característica por la cual se distingue y a la cual se le atribuye ciertas funciones.

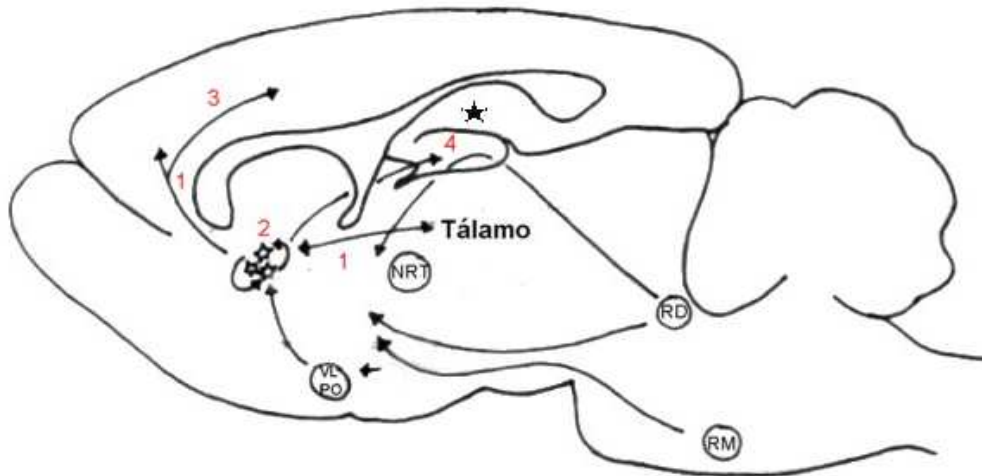
#### *-Sueño de Ondas Lentas (SOL)*

La actividad eléctrica generada durante el sueño se ha identificado y caracterizado en 5 etapas en el humano, y 3 en la rata (Morgane et al 1993). Las primeras 4 etapas del sueño en humano y las primeras 2 de la rata corresponden al sueño de ondas lentas (SOL)

(**Fig. 3**) o sueño donde no hay movimientos oculares rápidos (SNMOR), y donde las ondas electroencefalográficas son de alta amplitud, baja frecuencia y hay un bajo tono muscular. El SOL se considera como una fase de “reposo”, o un estado inactivo ya que las ondas electroencefalográficas van progresivamente aumentando su amplitud y disminuyendo su frecuencia por sincronía neuronal conforme el sueño va profundizando.

Durante las primeras 2 fases de SOL, al ser transicionales hay una mezcla entre patrones de actividad cerebral de bajo voltaje (10-30  $\mu\text{V}$ ) y frecuencia alta (16-25 Hz) a actividad eléctrica más lenta y amplia como ondas alfa (8-12 Hz) y los “husos de sueño” (7-14 Hz) (ondas bifásicas de alto voltaje que ocurren periódicamente entre la actividad de bajo voltaje estereotipada) (**Ver Fig. 3: 1, 2**). Esta actividad originada en redes corticales por activación cortico-talámica e intracortical y por potenciales de acción individuales con periodos largos de hiperpolarización (Dinner et al 2001, Kandel et al 2001) dan paso a las fases 3 y 4 ya que el retraso de la excitabilidad neuronal facilita la despolarización neuronal tónica y sincrónica que resulta en una suma temporal de potenciales de acción mostrándose en EEG como ondas de gran amplitud y frecuencia baja (Dinner et al 2001; Benington 2000; McCormick & Bal 1997). En las fases 3 y 4 aparecen las ondas delta ( $\delta$ ) u ondas lentas (0.5-4 Hz) y las ondas theta ( $\theta$ ) (4-8 Hz) (**Ver Fig. 3: \***). En la fase 3 las ondas delta ( $\delta$ ) u ondas lentas (0.5-4 Hz) surgen por efecto de marcapaso por procesos de retroalimentación positiva del sistema tálamo-cortical sobre la corteza donde las capas 2-3 a la 5 mantienen dicho patrón de disparo lento (Llinás & Steriade 2006; Dinner et al 2001). Es durante ésta fase que hay una alta liberación de acetilcolina y de norepinefrina, serotonina e histamina a niveles bajos que permite la hiperpolarización. La presencia de ondas theta, o de trabajo, es muy importante ya que se asocia la aparición de ésta actividad eléctrica a eventos de procesamiento de ciertos tipos de información y su integración

(Buzsáki 2002). Las fases 3 y 4 son las fases más estudiadas por estar asociadas a funciones esenciales en la recuperación física y modulación, integración y transmisión de información, y son consideradas en conjunto como “sueño profundo” (Dinner et al 2001).



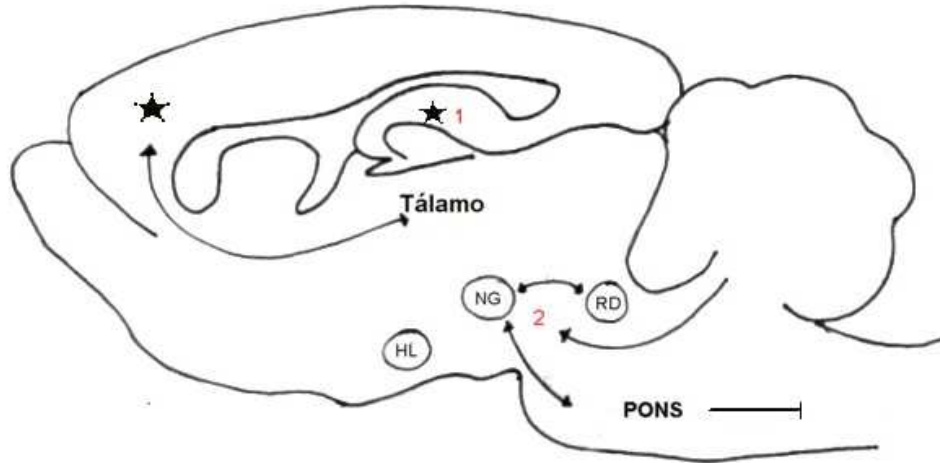
**Figura 3** El SOL inicia por la activación del Hipotálamo anterior el cual estimula el área preóptica ventrolateral (VLPO), activando neuronas colaterales a neuronas talamocorticales y corticotálamicas coordinadas. Las ondas alfa se originan en el lóbulo occipital, los “husos de sueño” (1) provienen del Núcleo Reticular Talámico (NRT) y se transfieren a la corteza mediante neuronas GABAérgicas, las cuales mediante aferentes al Hipotálamo posterior impiden la manutención de vigilia; y los complejos K (2). Núcleos del tallo como el núcleo de Rafe dorsal (RD) y medio (RM), mandan aferentes al Hipotálamo anterior, algunas haciendo relevo en estructuras límbicas como amígdala e hipocampo donde se promueve la sincronización neuronal y así ritmos más amplios y lentos. En la fase 3 aparecen las ondas delta ( $\delta$ ). En la fase 4 hay un pronunciamiento de las ondas delta ( $\delta$ ), aparecen las ondas theta ( $\theta$ ) (4-8 Hz), las cuales son mantenidas y fortificadas en hipocampo y corteza entorrinal (\*).

#### -Sueño de Movimientos Oculares Rápidos

La última etapa tanto para humano como para la rata corresponde al sueño paradójico (SP) (Fig. 4) o sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) y está caracterizado por presentar ondas más asincrónicas de baja amplitud y alta frecuencia, muy similares a las presentes durante la vigilia sólo que, paradójicamente, sin tono muscular.

Durante el SP hay una inversión absoluta en el patrón eléctrico, hay una transición rápida de un estado “inactivo” a uno “activo” al pasar de actividad eléctrica sincrónica lenta a actividad rápida y asincrónica (Kandel et al 2001). La activación de las neuronas talamo-

corticales permite la transición de SOL a SP ya que resulta en la inhibición de las corrientes de calcio y así de los ritmos lentos (Ver **Fig 4: \***). La vía serotoninérgica es frenada al entrar en SMOR por lo que determina la latencia y funciona como mecanismo regulador (Kandel et al 2001, McCormick & Bal 1997). Hay una activación colinérgica del Rafe dorsal (RD) (de manera muy disminuida a comparación con los otros estados de vigilancia), la formación reticulo-pontina y de la zona media de la corteza prefrontal cuya acción, similar a la actuante en vigilia, promueve la desincronización neuronal generando ondas de mayor frecuencia y baja amplitud (Krajnak et al 2003), aunque existen grupos que opinan que la activación a SP inicia en puente (Ver **Fig 4: PONS**), en la protuberancia (Vataev 2006). La activación de áreas prefrontales, hipotálamos lateral posterior, formación reticulo-pontina, el núcleo geniculado lateral y la corteza occipital generan patrones eléctricos, que por su origen son llamadas ondas ponto-geniculo-occipitales (ondas PGO). La aparición de las ondas PGO se ha correlacionado con la aparición de los movimientos oculares rápidos, característicos de ésta fase. Es también durante SP que hay en hipocampo activación y coordinación en aparición de ondas Theta y Gamma similares a las que aparecen en vigilia (Ver **Fig 4: \***) (Buszáki 2002, Montgomery et al 2008). A pesar de las similitudes con la vigilia en cuanto a activación neuronal, hay un bloqueo total de la movilidad por la disminución de norepinefrina, serotonina e histamina que generan una hiperpolarización de la motoneuronas de la médula espina y se provoca así el bloqueo muscular. (Geraschenko et al 2004; Benington 2003, Krajnak et al. 2003, Kandel et al. 2001, Steriade et al 1999,2003).



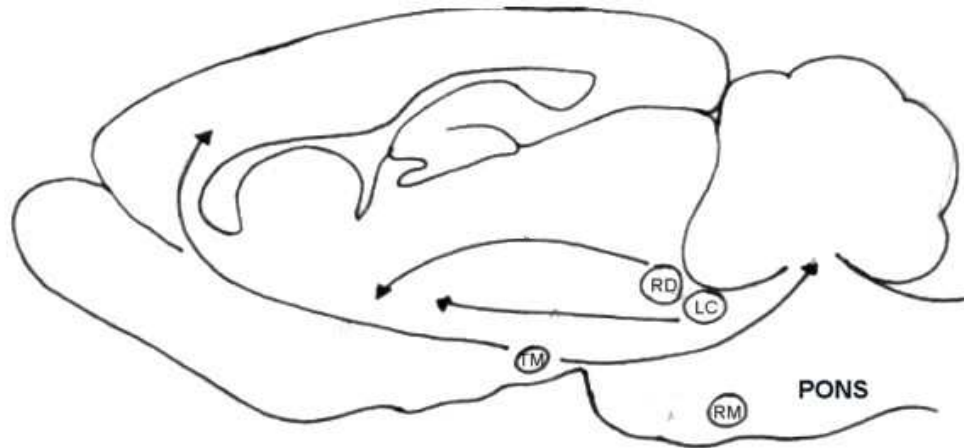
**Figura 4** La activación de neuronas tálamo-corticales permite la entrada al SMOR (\*). La activación del Rafe dorsal (**RD**), la formación retículo-pontina y de la zona media de la corteza prefrontal permiten la desincronización. Las ondas PGO se generan por la activación de áreas preformales, hipotálamo lateral posterior (**HL**) de la formación reticular pontina, el núcleo geniculado lateral (**NG**) y corteza occipital. Hay activación en hipocampo donde hay aparición de ondas  $\theta$  y  $\gamma$ .

### -Vigilia

La vigilia es un estado “activo” durante el cual el cerebro se mantiene en alta asincronía y hay presencia de actividad electroencefalográfica de baja amplitud y alta frecuencia y control del tono muscular (**Fig. 5**). La generación y manutención de la vigilia depende del Hipotálamo Posterior, los núcleos tuberomilares (TM) particularmente, los cuales por aferentes histaminérgicas activan zonas cerebrales como la corteza y cerebelo donde se genera actividad asincrónica rápida y de baja amplitud, propia de ésta fase. Hay una activación muy grande de neuronas serotoninérgicas en Rafe Dorsal (RD), Rafe Medio (RM) y de neuronas noradrenérgicas en *Locus coeruleus* (LC). La actividad de las neuronas histaminérgicas cesa durante SOL y SP. La actividad de las neuronas histaminérgicas cesa durante SOL y SP. El glutamato al ser la principal molécula excitadora del SNC y al tener receptores ampliamente distribuidos en hipotálamo, se cree, es una de las moléculas inductoras de vigilia. La liberación de glutamato y la secreción de hormona liberadora de



corticotropina (CRH), estimulan la corteza y facilitan la actividad asincrónica propia de vigilia. (Geraschenko et al 2004; Benington 2003, Kandel et al. 2001, Carey Ed. 2002, Steriade et al 1999,2000).



**Figura 5** La generación de la vigilia se da a partir de la activación de núcleos del Hipotálamo Posterior como los núcleos tuberomamilaes (TM) que generan desincronización. Hay activaciones en Rafe Dorsal (RD), Rafe Medio (RM) y en *Locus coeruleus* (LC).

Durante una noche, o periodo de reposo, se presenta más de un ciclo completo de sueño (SOL-SP). Al comienzo del periodo de descanso el SOL es mucho más largo que el SP y la propensión a éste es mayor y por lo tanto hay una gran presencia de ondas delta con pocos intervalos de ondas theta en el EEG. Con el transcurso del periodo de sueño esta proporción se invierte, SOL disminuye su duración y el SP aumenta siendo el último ciclo el más grande en duración de SP (Benington et al 1994). Proporcionalmente en un periodo completo de descanso SOL siempre es mayor que SP.

En la mayoría de los mamíferos el SOL compone 4/5 del tiempo total de sueño (Frank et al 1997), aunque se ha propuesto que esto no es constante para todos los vertebrados. Zepelín a través del estudio de diferentes especies de mamíferos como han sido varios roedores, gatos, primates y el humano, entre otros, propuso que el intervalo entre episodios de SP

está en función del tamaño encefálico, es decir, mientras menor sea el tamaño cerebral, el tiempo entre los episodios de SP es menor (Zepelín 2000). Los episodios de SP en humanos ocurren en intervalos de 70-90 minutos, presentando entonces entre 4 y 5 episodios de SMOR por noche (Carey Ed. 2002, Benington 1994). La rata por otro lado presenta episodios de SMOR en intervalos de entre 10 y 20 minutos, siendo así capaces de expresar más de 50 episodios de SMOR por periodo de sueño (Benington 1994).

#### *-Estados de Vigilancia y Malnutrición*

Se ha sugerido que la malnutrición prenatal al retrasar la maduración y modificar el desarrollo de diversos núcleos del SNC, altera la arquitectura del sueño y el enfasamiento circádico de los estados de vigilancia (Datta et al 2000, Cintra et al 2002, Austin-Lafrance et al 1991, Shultz et al 1995, Lister et al 2005, Tonkiss et al 1998).

Los estudios sobre la electrofisiología cortical indican que la malnutrición y la desnutrición conducen a un aumento en la actividad eléctrica de ondas lentas en la corteza cerebral. Considerando que SMOR es de vital importancia para las funciones cognoscitivas es importante hacer notorio que de acuerdo a lo encontrado por Datta y su grupo (2000) las ratas malnutridas prenatales pasan mucho más tiempo en SOL (19.7% más) que las ratas normales y que SMOR está excesivamente disminuido (60.74% menos) explicando de éste modo el bajo rendimiento que tienen en pruebas conductuales de laboratorio. También Datta y su grupo (2000) encontraron que el promedio de episodios de SMOR en ratas malnutridas prenatales era significativamente menor que en ratas control teniendo una proporción de 9.67:18.33 respectivamente. Además de esto las concentraciones de serotonina en hipocampo era más de 600% más alta en ratas malnutridas que en las control. Debido a que la serotonina es un principal regulador del ciclo sueño-vigilia al ser

un neuromodulador inhibitor del SMOR, la reducción en la cantidad total de SMOR en las ratas malnutridas prenatales es el resultado de una concentración basal de serotonina muy elevado (Datta 2000).

#### *-Estados de vigilancia y epileptogénesis*

Los distintos tipos de síndromes epilépticos en humanos tienen sus propias características patológicas así como propensión diferencial sobre su incidencia en distintos momentos del ciclo sueño-vigilia (Dinner 2001, Quigg 2000).

La actividad epileptiforme durante el sueño provoca el aumento en la latencia al sueño, en despertares, en la inestabilidad entre fases, el aumento proporcional de SOL, la disminución de los husos de sueño, de SMOR y del tiempo total de sueño y eficiencia de éste (Dinner 2001).

Se ha demostrado que las frecuencias eléctricas en SOL sirven como sustrato sincrónico para la aparición de la actividad epileptiforme y por el lado contrario el SMOR lo inhibe al incrementar la desincronización neuronal (Steriade et al 2003; Dinner et al 2001; Quigg 2000). Se encontró también que los mecanismos desencadenantes de SOL son más susceptibles a la aparición de actividad epileptiforme que los desencadenantes de SMOR (Vataev 2006). Los mecanismos noradrenérgicos provenientes en su mayoría de *Locus coeruleus* en el tallo cerebral, que sirven primordialmente para la manutención de la vigilia, funcionan como facilitadores (Quigg 2000). Los ataques epilépticos también pueden provocar cambios circadianos de fase transitorios, pérdida de sincronía o variaciones ultradianas en el ciclo (Quigg 2001).

### *-Malnutrición y Epilepsia*

A pesar de que no se ha establecido una conexión directa entre la malnutrición y la incidencia de epilepsia se ha propuesto que la malnutrición a todos sus niveles pudiera llevar a la aparición de focos epilépticos (Hackett et al. 2001), afectación en la maduración de los patrones del EEG y disminución en el umbral para generar crisis convulsivas en modelos animales (Bronzino et al 1986, Taber et al 1980).

Se ha encontrado que hay una mayor predisposición a la aparición de epilepsia en niños en países en desarrollo ya que la tasa de malnutrición es más alta (Pal et al 2000). Según la organización mundial de la salud se ha estimado que la media de presencia de epilepsia activa es aproximadamente de 8.2 por cada 1000 personas de la población general, mientras que en países en desarrollo puede llegar a ser de 10 por cada 1000 persona. Se ha sugerido que como resultado de la malnutrición los mecanismos bioquímicos encargados de la síntesis de neurotransmisores inhibitorios y electrolitos son afectados negativamente disminuyendo así la capacidad de resistir el desarrollo de focos epilépticos (Austin-Lafrance et al 1991, Bronzino et al 1986, Galanopoulou et al 2002, Hallböök et al 2007).

La malnutrición puede disminuir el número de espinas dendríticas y de esta manera puede haber una disminución en la eficacia sináptica lo cual puede causar una propensión a las crisis epilépticas (Shultz et al 1995). En ratas jóvenes malnutridas se notó una deficiencia en la neurogénesis en hipocampo inmaduro así como se intensifica la neurogénesis en el giro dentado, esto como resultado del estado epiléptico (Austin et al 1992). Las estructuras límbicas tienen funciones integrativas de gran importancia y el desarrollo de focos epilépticos repercute en dichas funciones por lo que se ha generado un gran interés en el estudio de la epilepsia en estas estructuras (Bertoli et al 2006). Se ha encontrado que la actividad convulsiva generada en la formación hipocámpica interfiere con el

almacenamiento de la memoria lo cual se refleja en incapacidades cognitivas como la memoria espacial verbal y la capacidad de atención (Becker et al 1997, Hannesson et al 2004, 2000).

Se ha reportado que a mayor inmadurez del animal (en particular, en la rata) la actividad eléctrica cerebral se manifiesta con mayor cantidad de sueño. Se ha observado en algunos estudios que la PLP se retrasa en los animales malnutridos (Bronzino et al 1990) y las crisis epileptiformes producidas por la estimulación constante tanto en el patrón perforante del hipocampo como de los núcleos amigdalinos, requieren de mayor número de sesiones de estimulación para producir la actividad epiléptica hasta el estado 5 (crisis convulsivas) (Austin La-France, et al 1991, Shultz, et al 1995), aunque en otros casos la malnutrición sólo contribuyó a la disminución del umbral de susceptibilidad al proceso de inducción epiléptica o “*kindling*” (Palencia et al. 1996) lo que nos muestra que la malnutrición interviene en la función normal del cerebro así como de sus mecanismos de compensación y homeostasis.

El sueño es un proceso homeostático el cual, como nos hemos referido con anterioridad, es muy vulnerable a diversos insultos, como es el caso de la malnutrición y la actividad epileptiforme los cuales pueden provocar cambios en la bioquímica normal que repercuten directamente en la fisiología no solo del cerebro sino en el bienestar general del organismo.

#### *-Modelos Experimentales*

Se han generado modelos animales de convulsión y de epilepsia para el estudio de la actividad epileptiforme humana (Sarkisian 2001), los cuales también han servido para estudiar las repercusiones de los distintos síndromes epilépticos en los patrones de sueño

(Ateş et al 2005, De Luca et al 2005, McCormick et al 1997, Quigg 2001, Vataev 2006) y en el funcionamiento de los sistemas que lo controlan (Vataev 2006).

De los modelos más utilizados para el estudio de la actividad ictal en animales por su confiabilidad y homología con la epilepsia humana son los generados utilizando la técnica de “*kindling*”. El fenómeno de “*kindling*” es el procedimiento mediante el cual se intensifica progresivamente la excitabilidad neuronal mediante la administración repetida de estímulos eléctricos subictales directamente en zonas específicas del cerebro (particularmente en estructuras del lóbulo temporal) o dosis subconvulsivas de fármacos específicos de manera sistémica (Szyndler et al 2006, 2002; Sayyah, 2005; Morimoto 2004; Quigg 2001; Hannesson et al 2000). Esta inducción activa y potencia las vías cerebrales que utilizan glutamato o desactiva las vías reguladas por GABA (Morimoto 2004) y genera cambios progresivos en la fisiología y neuroquímica cerebral que llevan a la aparición de focos epilépticos duraderos o permanentes en las regiones estimuladas y cuya respuesta se manifiesta en el aumento en la duración, complejidad y propagación de las descargas paroxísticas así como una progresión en la severidad de la respuesta convulsiva (Morimoto 2004). La utilización de “*kindling*” ha sido de gran utilidad ya que se pueden evocar crisis focales que pueden derivar en crisis generalizadas simulando así el proceso epiléptico normal, sin embargo los mecanismos de inducción generan efectos distintos así como el grado de estimulación por lo que es difícil hacer una generalización del mecanismo epileptogénico (Szyndler et al 2002; Rocha et al 1996).

En el sistema límbico, se ha visto que la activación por “*kindling*” imita la epilepsia de lóbulo temporal al atrofiar neuronas hipocámpicas, disminuir las poblaciones neuronales en CA1, CA3, giro dentado, amígdala y corteza entorrinal; se produce gliosis, y se generan nuevas conexiones neuronales como ocurre de manera natural en los síndromes epilépticos

humanos (Morimoto et al 2004). Al igual que en humanos en este modelo animal se han probado similitudes en las alteraciones en las funciones cognoscitivas y mnemónicas (Szyndler et al 2006) relacionadas a la activación ictal.

El Pentilentetrazol (PTZ), 6,7,8,9-tetrahidro-5H-tetrazol[1,5-a]azepina también llamado Cardiazol o Metrazol es un derivado del tetrazol (compuesto heterocíclico sintético) que tiene una acción convulsivante al unirse de modo no competitivo al sitio de picrotoxina del complejo receptor GABA<sub>A</sub>/Benzodiazepina evitando así la acción del neurotransmisor inhibidor GABA (Racine et al 2003; Rocha et al 1996). Al bloquear el receptor, el cual está asociado con el canal de Cl<sup>-</sup>, afecta su conductancia y lleva a la estimulación y modificación de la densidad o sensibilidad de diferentes subtipos de receptores de glutamato (Rocha et al 1996) y estimula la liberación de radicales libres los cuales son tóxicos ya que inducen muerte celular (Rauca 2004). De manera generalizada se ha encontrado que los ataques epilépticos tónico-clónicos por PTZ aumentan la concentración de noradrenalina, disminuyen los niveles de dopamina y disminuyen los niveles de serotonina en corteza prefrontal y en estriado mas no en hipocampo (Szyndler et al 2002). Los efectos de este fármaco son evidentes a los 30 minutos de su administración y tiene una vida media de 3.8 horas en el organismo (Manjarrez 2003). En el EEG la acción del PTZ se evidencia con la aparición de espigas-onda y poliespigas, similares a las despolarizaciones paroxísticas tradicionales (Manjarrez 2003, 1997; Racine et al 2003) y se asocia con cambios bioquímicos e histológicos similares a los presentes en humanos (Sayyah et al. 2005, Tirassa et al. 2005) por lo que se ha usado para generar modelos de ausencias y crisis generalizadas (Gasior 2000). Dicho fármaco aplicado de manera sistémica estimula todo el cerebro pero afecta primariamente zonas con bajo umbral como la corteza motora (Marcus et al 2007) y estructuras límbicas como la amígdala, hipocampo y giro dentado (Szyndler et

al 2006). La estimulación con PTZ induce crisis por activación neuronal en formación reticular y núcleos asociados. (Nehlig et al 2006).

Aunado a esto se encontró que una nutrición deficiente (a base solamente de tortillas) o una nutrición deficiente en histamina han ayudado a la disminución de los umbrales de tolerancia a PTZ en ratas adultas (Jin et al 2005, Sotelo et al 1995) lo que nos puede indicar que a pesar de los mecanismos de recuperación en las redes neuronales de las ratas malnutridas, la disposición a una mayor vulnerabilidad del sistema biológico es mucho mayor. “*Kindling*” con PTZ disminuye los periodos de SMOR sugiriendo que los patrones alterados del sueño son dependientes de las alteraciones en la plasticidad a largo plazo en el funcionamiento central. El aumento del SOL posterior a una crisis pudiera ser un mecanismo adaptativo mientras que la disminución de SP es resultado de la actividad epiléptica sostenida (Schilling et al 2006).



## **HIPOTESIS**

Se ha observado que la malnutrición hipoproteínica prenatal crónica altera los mecanismos de regulación homeostática, la ciclicidad del ritmo circadiano de sueño-vigilia y se ven reforzados los sistemas de retroalimentación inhibitorios en el SNC. Por otro lado se ha visto que la actividad ictal en distintos síndromes epilépticos y en modelos animales de epilepsia al igual que la malnutrición hay una alteración en la arquitectura y en la duración del ciclo sueño-vigilia, y en contraste hay alteraciones y decaimiento en la eficiencia de los sistemas de inhibición. Considerando que, según lo reportado previamente, la actividad ictal pudiera estar siendo facilitada por la actividad eléctrica lenta y el “*kindling*” podría sensibilizar el SNC, pero podría haber un reforzamiento de los sistemas inhibitorios en el animal malnutrido podríamos esperar una reacción atenuada al insulto epileptiforme.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Observar el efecto provocado por la malnutrición crónica y la actividad ictal en el ciclo sueño-vigilia, la aparición y duración de la actividad ictal total y caracterizada, la correlación intra e interhemisférica del hipocampo como de la corteza orbital, así como los cambios en los patrones conductuales de ratas adultas controles y malnutridas crónicas.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Determinar si existen diferencias en la arquitectura del ciclo sueño-vigilia entre ratas control (CO) y malnutridas crónicas (MC) atendidas a un modelo de epilepsia por

“*kindling*” farmacológico, utilizando como parámetros el tiempo total y porcentajes de duración en cada estado de vigilancia tanto pre-estimulación (PRE) como post-estimulación (POST).

- Evaluar de la misma manera la actividad eléctrica paroxística como espigas y trenes, y comparar entre grupos tanto la cantidad de actividad eléctrica epileptiforme así como su distribución en el ciclo.
- Evaluar la conducta estereotipada de los grupos CO y MC así como la conducta descrita para las crisis epilépticas tanto en PRE como en POST e identificar si existe un cambio en el patrón conductual normal y los patrones conductuales relacionados a crisis epilépticas posteriores a la estimulación.
- Analizar el espectro de potencia relativa en PRE como en POST para cada estado de vigilancia y para ambos grupos y así determinar si existen diferencias en la potencia de ciertas frecuencias posterior a la presencia de actividad ictal o epileptogénica, de qué tipo y en qué estado.
- ♦ Examinar las correlaciones inter e intrahemisféricas antes y posterior a la estimulación y ver si hay una diferencia en la comunicación neural como resultado de la actividad ictal y así comparar entre los grupos nutrimentales.

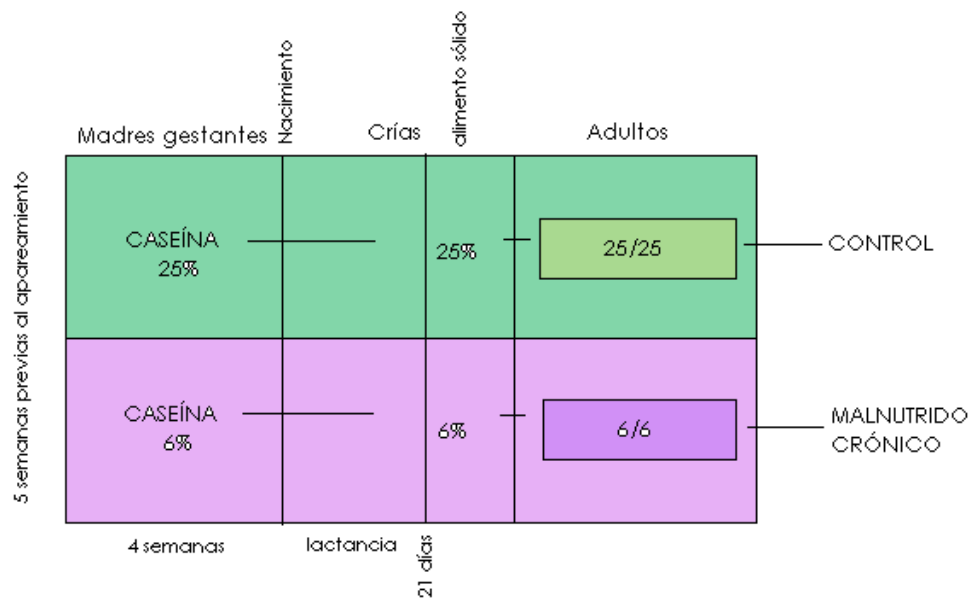
## **MATERIAL Y MÉTODO**

### *-Animales*

Se formaron 2 grupos experimentales constituidos cada uno por 9 ratas (*Rattus Norvegicus*) de la cepa Sprague-Dawley, machos de 90 a 100 días de edad, los cuales fueron estimulados desde aproximadamente los 60 días de edad con (PTZ) como método de “*kindling*” farmacológico. Los grupos fueron llamados Control Epiléptico (CO) y Malnutrido crónico epiléptico (MC).

### *-Método de Malnutrición*

Para producir los modelos nutricionales y evitar el amortiguamiento metabólico por efecto materno se realizó un control de la dieta desde el periodo pre-gestacional de las madres. Se emplearon 2 grupos de ratas de la cepa Sprague-Dawley, hembras adultas (250-300gr) las cuales fueron mantenidas con comida y agua ad libitum en un ambiente de temperatura y ciclos lumínicos controlados. Al primer grupo se le dio una dieta hipoproteínica e isocalórica de caseína al 6% y al segundo se le dio una dieta normal de caseína 25% para animales de laboratorio, y se les alimentó así 5 semanas previas al apareamiento, durante la gestación y la lactancia (**Fig 6**).



**Figura 1** Método de Malnutrición. Las madres son malnutridas previamente al apareamiento para asegurar que no haya amortiguamiento nutricional a los productos. Se mantiene la dieta ya sea control o hipoproteínica (caseína 6%) durante las 4 semanas de gestación y la lactancia. Las crías de madres control (25%) continuaron con ellas durante la lactancia, y posterior al destete se les alimentó con la dieta de caseína 25% (25/25). Para formar el grupo MC, después del nacimiento, las crías de madres malnutridas (6%) se mantuvieron con sus madres hasta el destete para continuar posteriormente con la dieta de caseína 6% (6/6). El destete se llevó a cabo al día 21.

### -Dietas

El modelo de malnutrición hipoproteínica se llevó a cabo según el modelo utilizado en el laboratorio de EEG y Cronobiología del INB, Campur Juriquilla, UNAM por el grupo Cintra-Durán, el cual se basa en un modelo generado por Morgane de dietas con contenido proteínico variable (Durán 2000), en éste caso 6% caseína. La dieta de caseína al 6% está adicionada con l-metionina (0.4%) debido a que carecen de este aminoácido esencial, así como de fosfato de calcio monobásico (0.6%) y carbonato de zinc (0.001) para mantener estos minerales en los niveles encontrados en otras dietas. El grupo CO se alimentó con una dieta básica comercial (LabDiet® Purina Mills, Inc.) (**Tabla 1**)

### COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS DIETAS

COMPONENTES	DIETAS	
	<i>6% Caseína *</i>	<i>Comercial PMI</i>
<b>Proteína %</b>	5.3	23.4
<b>Grasa %</b>	15.0	10.0
<b>Carbohidratos %</b>	68.9	52.4
<b>Mezcla de Sales %</b>	4.0	6.9
<b>Mezcla de Vitaminas %</b>	1.0	2.0
<b>Agua %</b>	1.2	
<b>Elemento no nutritivo %</b>	4.2	5.3
<b>Colorante %</b>	0.33	----
<b>Energía (kcal/g)</b>	4.3	4.0
* Teklad WI, USA		

**Tabla 1- Tabla de componentes nutrimentales de ambas dietas utilizadas.**

#### *- "Kindling" Farmacológico -*

Para generar un modelo eficiente y confiable de epilepsia se utilizó el método de "kindling" farmacológico con Pentylenetetrazol (PTZ), antagonista de los receptores GABA<sub>A</sub> como convulsivante. El PTZ fue disuelto en solución salina al 0.9% en un frasco cubierto para mantenerse como solución stock en refrigeración. La solución se mantuvo en almacenamiento por un máximo de 5 días, posteriores a los cuales se desechó y reemplazó con solución nueva. Se suministraron dosis subconvulsivas vía intraperitoneal en dosis únicas de PTZ en los días 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, hasta 17, a partir aproximadamente de los 60 días de edad dependiendo de la resistencia y supervivencia.

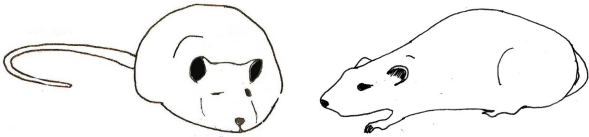
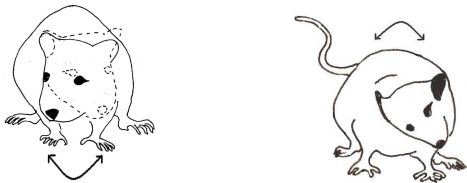
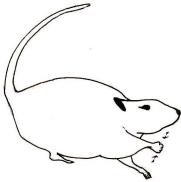
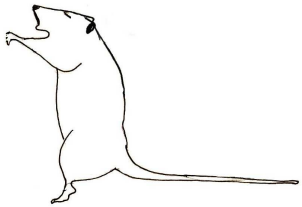
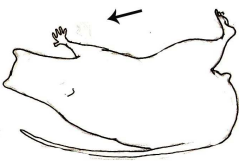
Al realizar las estimulaciones se encontró que los animales CO eran más sensibles a la solución de PTZ por lo que las dosis iniciales de estimulación debían ser muy bajas, contrario a los animales MC los cuales presentaban alta resistencia a estimulación por lo que las dosis durante todo el periodo de estimulación para ambos grupos fue distinto. A

partir de los primeros 2 grupos a estimulación se hizo un estimado y propuesta de dosis para los grupos subsecuentes (**Tabla 2**) para minimizar la mortandad y maximizar el número de animales con estimulación completa.

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9
<b>6/6</b>	20	22	22	25	25	29	33	33	35
<b>25/25</b>	12	15	17	20	22	25	25	27	

**Tabla 2 Dosis propuestas para estimulación progresiva utilizando solución de PTZ al 0.9% en mg/kg durante 9 estimulaciones equivalentes a entre 18 y 20 días**

Posterior a la inyección, se monitoreó la conducta por 30 minutos y se evaluó la progresión de las conductas epilépticas según la escala original de Racine (1972):

Estado 0	No hay respuesta	
Estado 1	Mioclónias faciales y movimientos de masticación , “ausencias” (estasis sin movimiento de vibris ni responsividad a estímulos ambientales).	
Estado 2	Movimientos clónicos de la cabeza (jalones y/o movimientos repetitivos en U o en V), sacudidas de perro .	
Estado 3	Clonus unilateral de los miembros delanteros seguido por clonus contralateral.	
Estado 4	Erguimiento y sacudida de miembros delanteros.	
Estado 5	Contracciones tónicas y clónicas generalizadas, pérdida del control postural y caída	

Se consideraron como completamente inducidos (*fully kindled*) los sujetos que durante 3 estimulaciones consecutivas presentaron conductas de los estados 4 ó 5 sin presentar posteriormente ningún cambio patológico conductual o físico evidente. Dichos sujetos fueron entonces candidatos a implante y posterior registro electroencefalográfico.

#### *-REGISTRO*

##### *-Implante de los Electroodos-*

Al día siguiente de la última estimulación, se implantaron en los sujetos candidatos electrodos en la región del Cornu Ammonis (en el campo CA1) de la formación hipocámpica, y en la corteza orbital, con la cual se evaluaron las oscilaciones rítmicas de dichas estructuras. Se implantaron en cada rata, mediante la técnica estereotáxica:

- 1) Electroodos de acero inoxidable en las cortezas orbitales izquierda y derecha (coordenadas en relación a Bregma: anterior 1.0 mm, lateral 2.0 mm, vertical -1.5 mm),
- 2) Electroodos de acero inoxidable en el campo CA1 de los hipocampos derecho e izquierdo (coordenadas: anterior 2.3 mm, lateral 2.2 mm, vertical -2.7mm),
- 3) Electroodos flexibles del mismo material en los músculos dorsales del cuello. Se colocó un tornillo en el hueso craneal del lóbulo occipital como tierra y referencia.

Todos los electrodos se soldaron a un conector el cual fue fijado al cráneo del animal con pegamento y acrílico dental. Las coordenadas citadas fueron obtenidas de los atlas de Paxinos y Watson (1986).

##### *-Estimulación de manutención*

Al tercer o cuarto día posterior al implante (dependiendo del estado del animal) se realizó una estimulación de “manutención” la cual consistió de una dosis de PTZ menor a la última dosis que llevó al estado 4 ó 5. Esto con el fin de evitar una parcial recuperación

en el estado ya inducido. Durante la estimulación se monitoreó la progresión conductual para evitar el movimiento o desprendimiento del implante.

#### -Condiciones previas al registro

Se realizó el registro 7 días posteriores al implante para permitir la total recuperación y adaptación al conector de la rata. Veinticuatro horas previas al inicio del experimento, los animales se colocaron en una cámara sonoamortiguada de 38 x 38 x 114 cm, la cual sería la caja en la que se realizaría el registro al día siguiente, esto con el fin de que la rata estuviera adaptada al entorno al momento del registro y evitar “ruido” por reconocimiento a un ambiente nuevo. La caja se encontró provista de agua y comida ad libitum y se mantuvo en un ciclo lumínico de 12/12 y a temperatura regulada.

#### -Registro de la Actividad Eléctrica

Cada rata se unió al conector de los cables colocado en la parte superior de la caja momentos antes del inicio del registro. Los cables se unieron a un dispositivo especial que permite libremente su giro ("slip ring" Airflyte de 9 terminales). Se obtuvieron registros de actividad eléctrica cortical, hipocámpica y muscular durante 8 horas continuas utilizando un polígrafo Grass Modelo 7D de 8 canales, obteniendo así el registro electroencefalográfico en papel. De manera simultánea, el polígrafo se encontraba conectado a un convertidor matemático A/D, aplicando software de captura (CAPTUSEN) y procesamiento de señales, que tradujo la señal eléctrica del modo analógico al digital, obteniendo así el registro digitalizado. La captura de las señales eléctricas cerebrales se realizó con una frecuencia de muestreo de 256 Hz, tomándose 5,000 segmentos de 1024 puntos.

#### -Registro Conductual

El día anterior al registro se colocó y ajustó frente a la cámara, una cámara de video digital montada en tripié y conectada directamente a una videgrabadora la cual se echó a



andar simultáneamente con el polígrafo y el software de captura de señales al momento del registro. Se obtuvieron así 8 horas de video continuas.

*-ANÁLISIS DE DATOS*

-Evaluación de la conducta y estados de vigilancia-

A partir de los videos y de los registros del polígrafo se realizó una lectura simultánea. Se cuantificó la frecuencia de las diversas conductas tanto estereotipadas como epilépticas y a la vez se marcaron en el registro en papel, sirviendo así como apoyo para su lectura posterior (**Tabla 3**).

Conductas estereotipadas	Conductas epilépticas
1. Levantamiento soportado	1. Sacudidas de perro
2. Levantamiento no soportado	2. Mioclonías faciales
3. bebe	3. movimientos masticatorios (sin alimento)
4. come	4. ausencia
5. camina	5. Movimientos clónicos de cabeza
6. lame	6. Erguida (al caminar o quieta)
7. rasca	7. Rigidez de cola
8 aseo de cara	8. Clonus unilateral de miembros anteriores
9 aseo de cuerpo	9. Erguimiento con clonus bilateral de miembros anteriores
10 aseo genital	10. caída con crisis generalizada
11 husmeo	11. tetanización
12 inmóvil despierta	12 convulsión con salto
13 acostado	13 espasmos
	14 temblor
	15 masticación de aserrín (en vez de comida)

**Tabla 3** Se enlistan las distintas conductas que fueron evaluadas durante el estudio. La columna izquierda presenta las 13 conductas normales o estereotipadas de la rata. La columna derecha enlista las conductas descritas para la progresión de inducción hecha por Racine en 1972. Las conductas resaltadas en gris enlistan las conductas que fueron valoradas como “epilépticas” que no habían sido descritas previamente en la escala de Racine.

Se utilizaron como base las conductas descritas por Racine (1972) pero se agregaron conductas que sólo se presentaron posterior a la aplicación de “*kindling*” y que se presentaban a la par que otras conductas epilépticas descritas.

#### -Análisis de Estados de vigilancia-

Se hizo primero una evaluación visual de los registros electroencefalográficos en papel para distinguir a partir de los trazos electroencefalográficos los estados de vigilia (V), sueño de ondas lentas (SOL) y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). A partir de su identificación se realizó el conteo de épocas, o duración, en cada estado de vigilancia. Se usó el programa ESTADSUE para obtener el tiempo total de duración en cada estado de vigilancia (V, SOL o MOR), de tiempo en SOL (ST), de tiempo en MOR (RT), de sueño total (SRT), y el porcentaje aportado por cada estado de vigilancia en intervalos de tiempo específicos (media hora, una hora y dos horas).

#### -Análisis de actividad eléctrica epileptiforme-

Para facilitar el análisis de la actividad ictal se clasificaron de manera arbitraria los patrones electrográficos epileptiformes en espigas unitarias, trenes de espigas y paroxismos. Las espigas de manera típica se mostraron en su mayoría como espigas-onda. Los trenes de espigas se diferenciaron de las espigas unitarias ya que los trenes presentaban espigas de manera distintiva pero en cadena y en intervalos temporales menores a una época (2.4 segundos). Los paroxismos se distinguieron de los trenes de espigas y de las espigas unitarias al presentarse como trazos rápidos, de gran amplitud, en la que no había recuperación evidente después de la aparición de una espiga antes de la aparición de la siguiente. Se evaluó tanto la duración de los paroxismos como el número de espigas unitarias por tren así como su aparición a lo largo de las distintas fases del ciclo.

### -Análisis espectral-

Se registró la señal analógica mediante el programa CAPTUSEN. Se realizó la transformación a una señal digitalizada utilizando una tarjeta matemática analógico/digital. A partir de la señal digitalizada se eligieron 60 segmentos de 4 segundos para cada estado de vigilancia y para analizar la actividad ictal en PRE y POST estimulación. Utilizando POTENCOR se realizó el análisis espectral empleando la Transformada Rápida de Fourier, la cual desglosa una señal en las distintas frecuencias que la componen y así analiza y cuantifica la potencia de cada frecuencia. De igual manera utilizando POTENCOR fue posible realizar análisis de correlación entre las estructuras como entre los hemisferios. Estos datos fueron procesados en un filtro digital para obtener los espectros de potencias absolutas y relativas, mediante una rutina que emplea la Transformada Rápida de Fourier para el análisis espectral del ECoG (POTENCOR, 2003). Los segmentos seleccionados para el análisis fueron aquellos libres de ruido y artefactos considerando sus características electrográficas de amplitud y frecuencia. Posteriormente, se analizaron los índices de correlación intra e interhemisférica del hipocampo y la corteza y se obtuvieron los espectros de las potencias relativas y absolutas por cada Hertz en un rango de 1-32 Hz. Posteriormente se graficaron las potencias relativas para los espectros de frecuencias de la corteza y la actividad eléctrica del hipocampo en los grupos CO y MC. El análisis del espectro de frecuencias de las señales del ECoG se realizó mediante rutinas de software Captusen y Potencor diseñadas en la UNAM y modificadas para los requerimientos del presente estudio. Tanto para la captura y revisión de señales, la obtención de los espectros de potencia de las señales capturadas, el delimitar las bandas de frecuencia, así como obtener los valores de potencia absoluta, relativa y los índices de correlación además de los componentes principales del espectro de frecuencias de la actividad eléctrica. La utilización

de dichas rutinas nos permitió evaluar los parámetros espectrales y la correlación inter e intrahemisférica de los sujetos experimentales.

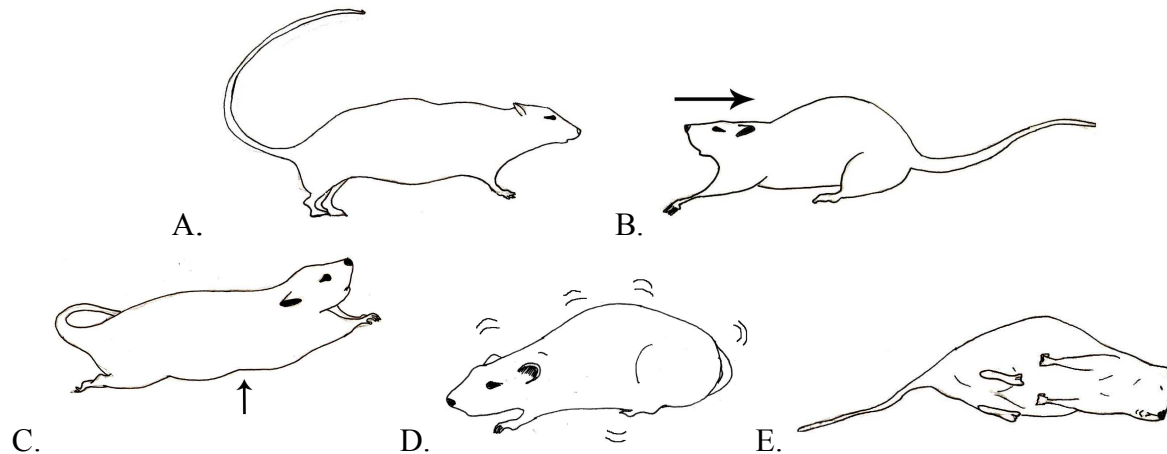
#### -Análisis estadístico-

Los datos obtenidos en el análisis de todos los sujetos se compararon estadísticamente mediante diseños mixtos de parcelas divididas de dos factores y tres factores para determinar las diferencias significativas en los parámetros de dieta, tiempo, conducta, estado de vigilancia, potencia relativa, etc. Dado el número importante de comparaciones efectuadas se considerará una  $p < 0.01$  o menor para permitir una mayor confiabilidad a las comparaciones estadísticas, finalmente se aplicó la prueba de Tukey post hoc al 1%, para establecer las diferencias significativas entre los parámetros y grupos experimentales.

#### *-ANÁLISIS DE LOS PATRONES CONDUCTALES*

Utilizando los videos enteros de los registros se evaluaron las distintas conductas espontáneas normales así como las conductas descritas para la progresión de crisis epilépticas, descrita por Racine (1972) con el fin de establecer si existía un cambio en el patrón conductual de las ratas a partir de la estimulación.

A partir de la observación de los animales durante las crisis se identificaron conductas asociadas a las crisis no descritas previamente las cuales también fueron consideradas y cuantificadas como conductas epilépticas (**Fig 7**).



**Figura 7.** Se muestran las conductas asociadas no descritas por Racine (1972) para la progresión de las crisis epilépticas por “*kindling*”. A. Erguimiento y rigidez de cola; el animal camina con los miembros extendidos, la cola podía mantenerse rígida. Podía presentarse rigidez de la cola sin rigidez de los miembros. B. Espasmos; el animal súbitamente tenía contracciones musculares en todo el cuerpo resultando en “jalones” o “saltos” hacia atrás, en varios casos antecedían a los erguimientos o a las convulsiones con salto. C. Convulsión con salto; no había pérdida de conocimiento durante una crisis motora generalizada por lo que “corría” pero al presentar contracciones musculares resultaba en saltos anormales acompañados de mioclonias faciales y de miembros. D. Temblores E. Tetanización; el animal en el pico de una crisis convulsiva podía llegar a la rigidez muscular total, posterior a los eventos de tetanización los animales presentaban una fatiga extenuante.

Las conductas epilépticas se dividieron según su presencia durante los distintos niveles de progresión de las crisis en 5 siendo el nivel 0 ninguna actividad anormal a 5 o crisis motora generalizada. Algunas de las conductas asociadas descritas durante este estudio se agruparon a un nivel en particular por encontrarse asociadas a las conductas propias del nivel o ser antecesoras a éstas. Para el nivel 4 se agregó el conteo de espasmos los cuales eran contracciones musculares clónicas generales las cuales usualmente antecedían a los erguimientos con clonus bilateral. En el nivel 5 se agregaron las conductas de tetanización y convulsión con salto debido a que para ambas conductas había una presencia generalizada de la crisis en la corteza motora y había pérdida de control muscular absoluto. En el caso de la convulsión con salto el animal se encontraba consciente y había un incremento en la conducta de “escape” la cual al encontrarse comprometida por el descontrol de la locomoción voluntaria repercutía en “saltos” convulsivos posterior a los cuales podían

presentarse caídas y crisis generalizadas. La tetanización por otro lado era la manifestación tónica de la crisis la cual se veía como contracción muscular absoluta del animal. En todos los casos la tetanización iba acompañada de inconsciencia. Las demás conductas asociadas no se integraron con ningún nivel por generarse en cualquier momento, independientes a cualquier otra conducta.

Se cuantificó la frecuencia acumulada de cada conducta (tanto estereotipada como epiléptica) en intervalos de 30 minutos para cada grupo (CO y MC) hasta completar 16 medias horas para las 8 horas de registro. Utilizando el programa estadístico Estadis2 V.1.0., se realizaron análisis de varianza de diseños mixtos de parcelas divididas, con el propósito de comparar y determinar si existían diferencias en la frecuencia de actividad dentro de cada grupo experimental (CO vs. CO/ MC vs. MC) y entre dietas (CO vs. MC) a través del tiempo y para todas las conductas.

## RESULTADOS

### *-ANÁLISIS CONDUCTUALES*

Tanto para el caso de las conductas estereotipadas como las conductas epilépticas se obtuvieron diferencias significativas dentro de los grupos en cuanto a las conductas ( $P=0.001$ ), entre grupos en cuanto al tiempo ( $P=0.001$ ) y en la comparación global diferencias entre las conductas y el tiempo entre ( $P=0.001$ ) (**Apéndice Tablas A y C**).

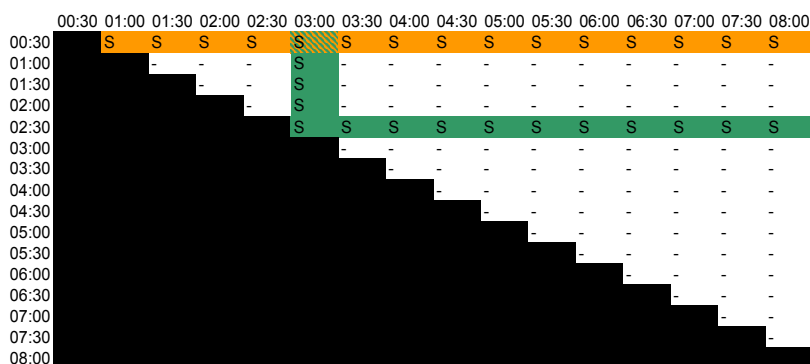
Posteriormente, utilizando el programa COMPAMUL, se realizaron comparaciones múltiples para determinar las diferencias y su significancia. El programa aplica la prueba de Duncan y de Tukey al 5% y 1%. Se resolvió que se considerarían como significativas sólo aquellas comparaciones que fueran positivas según la prueba de Tukey al 1% para asegurar que las diferencias fueran confiables.

Para simplificar la explicación temporal se dividió arbitrariamente el registro en 4 intervalos temporales de 2 horas cada uno para completar las 8 horas de registro. Las primeras 2 horas fueron denominadas como Pre-estimulación (Pre), las siguientes dos horas que constan desde el momento de la estimulación, aparición de la crisis y etapa post-ictal se denominaron como Estimulación (Est), las siguientes dos horas se denominaron Post-estimulación 1 (Post1) y las últimas 2 horas de registro se nombraron Post-estimulación 2 (Post2).

En el análisis individual de la frecuencia con la que llevaron cada grupo nutricional a cabo las conductas estereotipadas a lo largo del registro encontramos que el grupo CO aumentó significativamente su frecuencia de caminata, husmeo y vigilia quieta posterior a la estimulación hasta el inicio de Post2 donde había una disminución de estas conductas. En el grupo MC aumentó la frecuencia en las conductas de caminata y husmeo durante Est y el inicio de Post1, sin embargo la rapidez de recuperación a un estado basal de las conductas

fue mayor en este grupo. De igual modo al analizar separadamente las conductas epilépticas a lo largo del registro para cada uno de los grupos nutrimentales observamos que, por efecto de la estimulación farmacológica todas aumentaban en el periodo de Est, particularmente habiendo un aumento significativo para el grupo CO de las conductas de sacudida de perro, movimientos clónicos de cabeza, caída y espasmos, mientras que para el grupo MC hubo un aumento en la frecuencia de movimientos masticatorios, movimientos clónicos de cabeza, erguimiento con clonus, caída y espasmos.

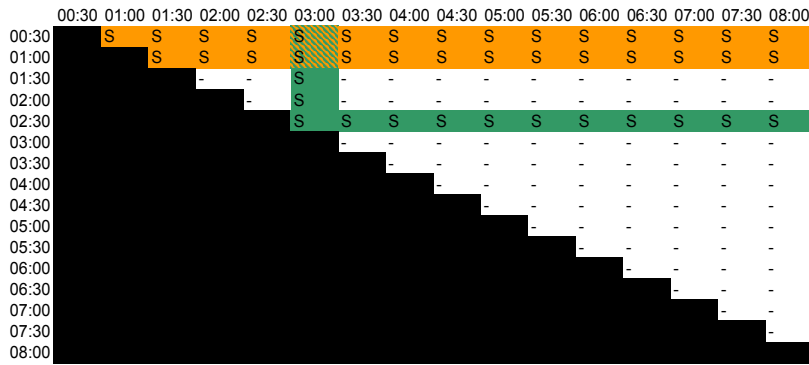
Al observar diferencias en frecuencia de actividad a lo largo del registro se realizaron comparaciones entre los grupos nutrimentales (*Apéndice Tabla A y C*) y se encontraron diferencias significativas en las conductas estereotipadas de levantamiento no sostenido, caminata y husmeo (*Apéndice Tabla B*) (**Tabla 4 y 5**). Siendo mayor una frecuencia basal de ambas conductas en el grupo CO mientras que incrementó la frecuencia en el grupo MC inmediatamente después de la estimulación. Al inicio del registro el grupo CO presentó una mayor frecuencia de actividad tanto de caminata como de las conductas exploratorias mientras que éstas aumentan posterior a la estimulación en el grupo MC. No se consideró como relevante el aumento en frecuencia del levantamiento no soportado ya que se presentó solamente en la última media hora del registro basal lo cual podría estar más asociado a la preparación para la estimulación y estadísticamente fue casi no significativa la diferencia.



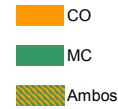
**Tabla 4-** Diferencias significativas en conducta de caminata. Durante la primera media hora del registro el grupo CO presentó una mayor frecuencia. Al momento de la estimulación el grupo MC presentó mayor frecuencia de caminata.



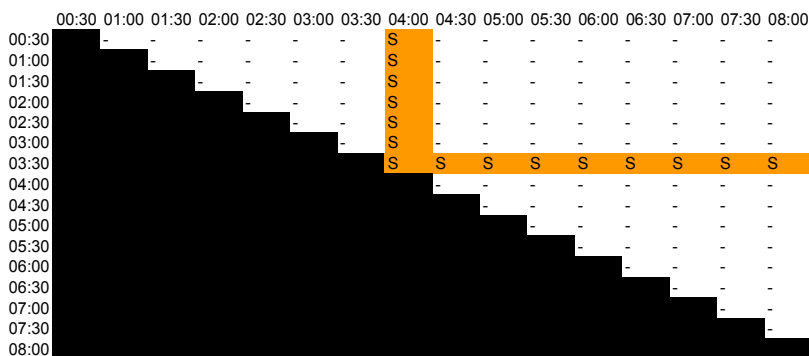




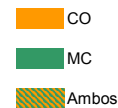
**Tabla 5-** Diferencias significativas en conducta de husmeo. Durante la primera media hora del registro el grupo CO presentó una mayor frecuencia. Al momento de la estimulación el grupo MC presentó mayor frecuencia en esta conducta.

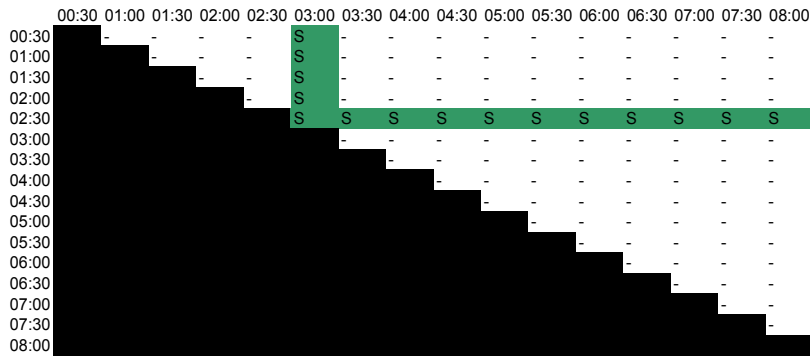


Al realizar las pruebas de comparaciones múltiples entre el grupo CO y MC en las conductas epilépticas encontramos diferencias en las conductas de movimientos masticatorios, caída y espasmos (*Apéndice Tabla D*) (Tablas 6, 7 y 8). Encontramos que el grupo CO presentó mayor frecuencia de movimientos masticatorios posterior al periodo de estimulación que el grupo MC no, sin embargo el grupo MC presentó una mayor frecuencia en caídas por convulsión y en espasmos posteriores a la estimulación y al inicio del periodo POST1 lo que muestra que le animal MC tiene una mayor tendencia a presentar conductas de mayor severidad en la crisis que el animal CO.

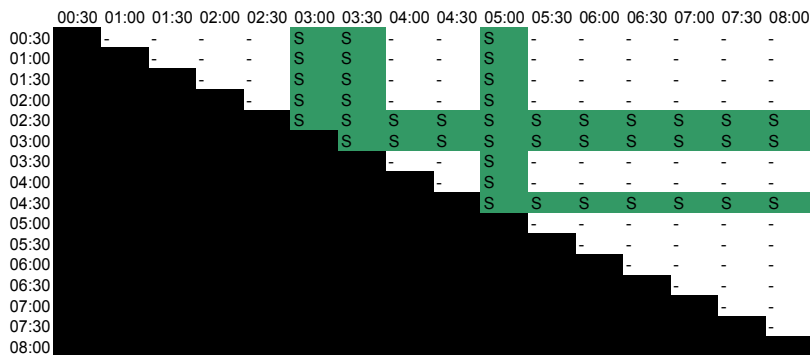


**Tabla 6-** Diferencias significativas en movimientos masticatorios. Después de la tercer hora del registro el grupo CO presentó una mayor frecuencia en esta conducta que el grupo MC.

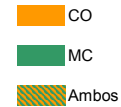




**Tabla 7-** Diferencias significativas en caída en convulsión. Después de la estimulación el grupo MC tuvo una mayor frecuencia de caídas por convulsión que el grupo CO.



**Tabla 8-** Diferencias significativas en frecuencia de espasmos. Inmediatamente después de la estimulación el grupo MC tuvo una mayor frecuencia de espasmos y al inicio del intervalo POST1.



### - ARQUITECTURA GENERAL DE SUEÑO-

Los 3 estados de vigilancia se graficaron en intervalos de 2 horas (**Fig 8**), los cuales fueron previamente explicados y definidos como los intervalos de tiempo de pre-estimulación (PRE), estimulación (EST), Post estimulación 1 (POST1) y Post estimulación 2 (POST2).

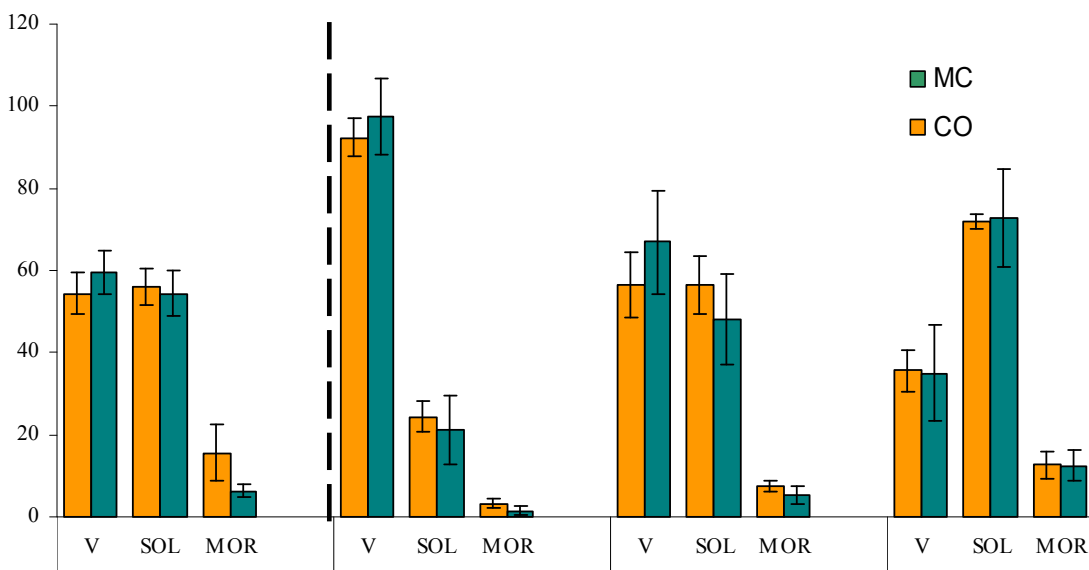
A partir del análisis de varianza se comparó la duración de cada estado de vigilancia en cada intervalo de tiempo entre los grupos nutricionales y determinar si existían diferencias significativas entre los grupos.

En los análisis de los 3 estados de vigilancia, los resultados mostraron que no existen diferencias significativas en la duración de cada estado de vigilancia entre el grupo CO y el

grupo MC en ninguno de los intervalos de tiempo analizados (medias horas, cada hora, cada dos horas).

Estos resultados podrían indicar que desde el intervalo pre-estimulación o basal, no existe una diferencia significativa en la duración total en un estado de vigilancia entre los grupos nutricionales. Ambos grupos presentan una duración similar en cada estado de vigilancia previa a la estimulación y presentan modificaciones similares en cuanto a estructura y duración del patrón del sueño posteriores a los periodos ictales.

Sin embargo, sí existe una diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) entre los intervalos de tiempo a lo largo del registro en los estados de vigilia y SOL (*Apéndice Tablas E, F, G y H*).



**Figura 8-** Duración en cada estado de vigilancia por intervalo de tiempo de registro entre los grupos nutricionales. No hubo diferencias significativas entre los grupos nutricionales. Sí entre intervalos de tiempo.

Durante EST hubo un incremento significativo de la vigilia, la cual disminuyó significativamente durante POST2 en comparación con PRE y POST1. El aumento durante EST puede estar relacionado con la manipulación del animal y la crisis por inducción la cual modifica la conducta normal del animal. La disminución de vigilia en POST2 es el

resultado del aumento de SOL y sucede lo opuesto durante EST. MOR no tiene cambios significativos a lo largo del registro.

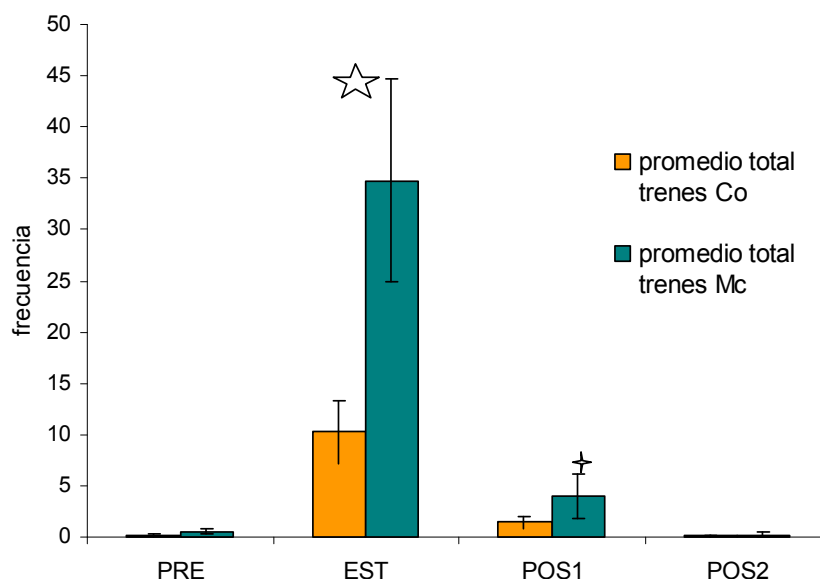
### ***-ACTIVIDAD EPILEPTIFORME-***

Se calificaron los patrones electroencefalográficos rápidos y de gran amplitud (utilizando en la mayoría de los casos el registro conductual para establecer relación de la actividad epiléptica con la aparición de trazos epileptiformes) utilizando la división temporal de PRE, EST, POST1 y POST2. Se cuantificó el número total de espigas, de trenes y de paroxismos. Se estimó a su vez la cantidad promedio de espigas por tren y duración de los paroxismos.

Al aplicar el diseño mixto de parcelas divididas el número de espigas unitarias tuvo diferencias significativas a través del tiempo ( $P < 0.0001$ ) (*Apéndice Tabla I*), tanto para el grupo CO como para el MC siendo mucho mayor la cantidad de espigas unitarias durante EST que en los otros 3 lapsos de tiempo, sin embargo entre los grupos nutrimentales no hubo diferencias significativas en cuanto a la cantidad de espigas unitarias totales en cada intervalo de tiempo (*Apéndice Tabla J*). Este resultado a pesar de ser significativo está asociado directamente con la estimulación farmacológica por lo que puede considerarse como un “falso positivo”.

En cuanto al número de trenes el análisis de parcelas divididas mostró que existen diferencias significativas entre los intervalos de tiempo ( $P < 0.0001$ ) y entre los grupos nutrimentales a través del tiempo ( $P = 0.0059$ ). La prueba de Tukey al 1% mostró que es mayor la cantidad de trenes de espigas del grupo MC durante EST que el grupo Co así como es significativamente mayor la cantidad de trenes durante EST que durante el resto

del registro para ambos grupos. Sin embargo en el grupo MC la cantidad de trenes de espigas durante el periodo POS1 también fue significativamente mayor que durante PRE y POS2, lo cual no fue perceptible en el grupo Co (**Fig. 9**).



**Figura 9-** El número de trenes totales fue significativamente mayor durante EST que el resto del registro tanto para el grupo Co como para el grupo Mc aunque el grupo Mc también fue significativamente mayor que el grupo Co durante EST. Además en el grupo Mc, la cantidad de trenes también fue significativamente mayor durante POS1 que los intervalos PRE y POS2

El número de espigas por tren también fue mayor durante EST que durante cualquier otro momento del registro, sin embargo no hubo diferencias entre la cantidad de espigas por tren entre los grupos nutrimentales (*Apéndice Tabla M*).

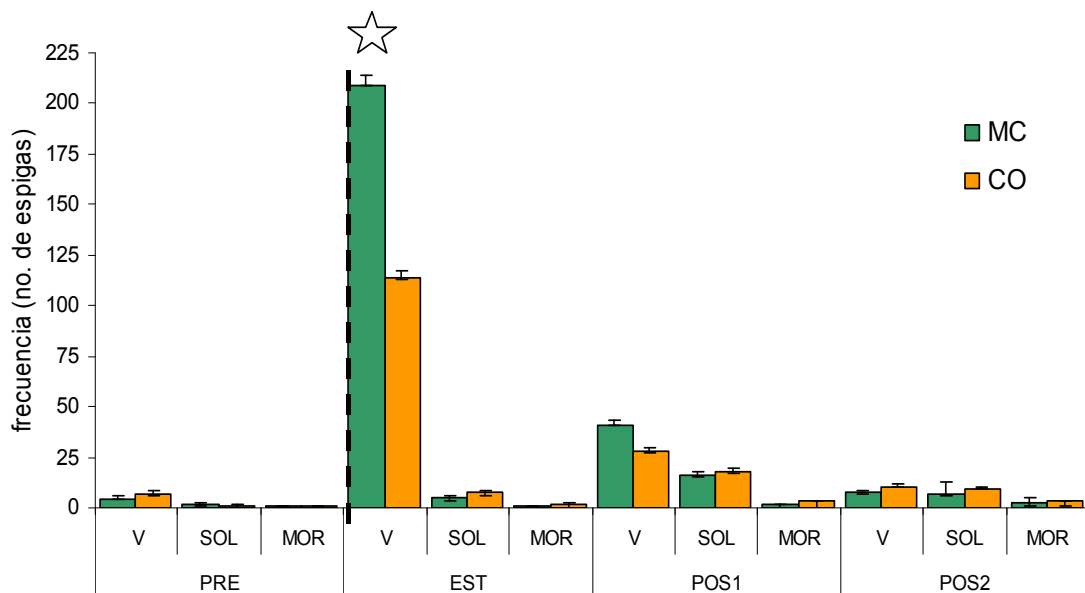
El número de paroxismos sólo tuvo diferencias significativas ( $P < 0.0001$ ) entre los intervalos de tiempo, siendo mucho mayor la cantidad de paroxismos durante EST tanto para el grupo CO como para el grupo MC que el resto de los intervalos de tiempo, pero sin diferencias significativas entre los grupos nutrimentales (*Apéndice Tabla N*). La duración promedio de los eventos paroxísticos no tuvo diferencias significativas entre los grupos nutrimentales ni a lo largo del tiempo (*Apéndice Tabla O*). Ante la activación y

desencadenamiento de un evento ictal tanto el grupo CO como el grupo MC presentan patrones similares de actividad epileptiforme, sin embargo el grupo MC puede presentar mayor intensidad en la actividad epileptiforme que el grupo CO.

**-ACTIVIDAD EPILEPTIFORME Y ESTADOS DE VIGILANCIA-**

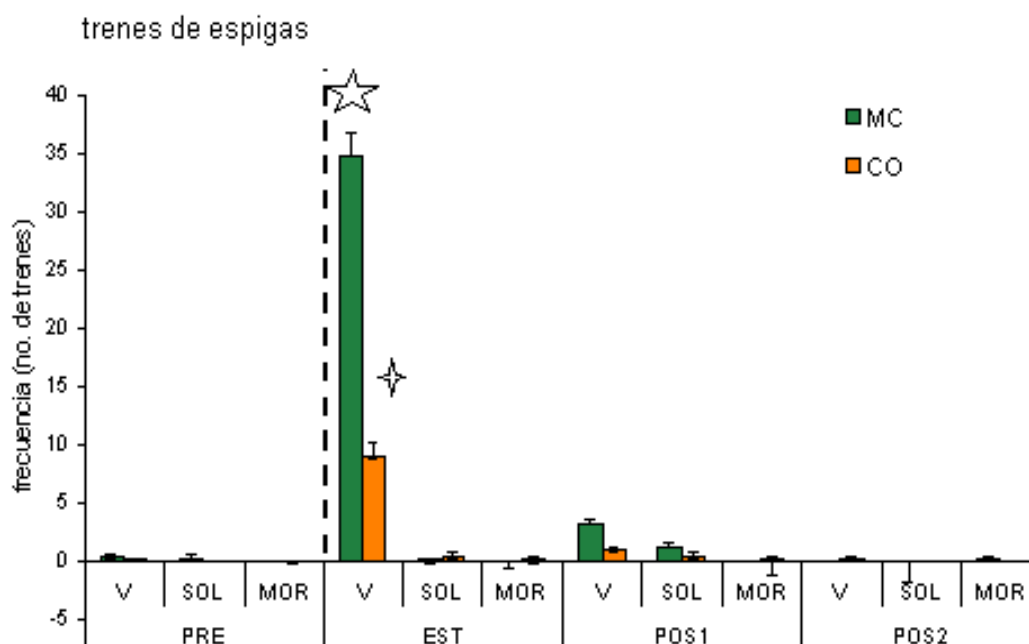
A partir de la evaluación de la actividad epileptiforme, se obtuvo también en que fase del ciclo sueño-vigilia se presentó y así ver si existe una relación en la activación ictal y los estados de vigilancia.

Se evaluaron las espigas unitarias y se encontró que existían diferencias significativas a lo largo del tiempo y entre los estados de vigilancia ( $P < 0.0001$ ) (*Apéndice Tabla P*). Al analizar separadamente entre los estados de vigilancia se encontró que durante vigilia el grupo MC en el tiempo EST presentó una mayor cantidad de espigas unitarias que durante el resto del registro, en comparación con SOL y MOR, así como a comparación del grupo CO entre todos los intervalos (**Fig. 10**).



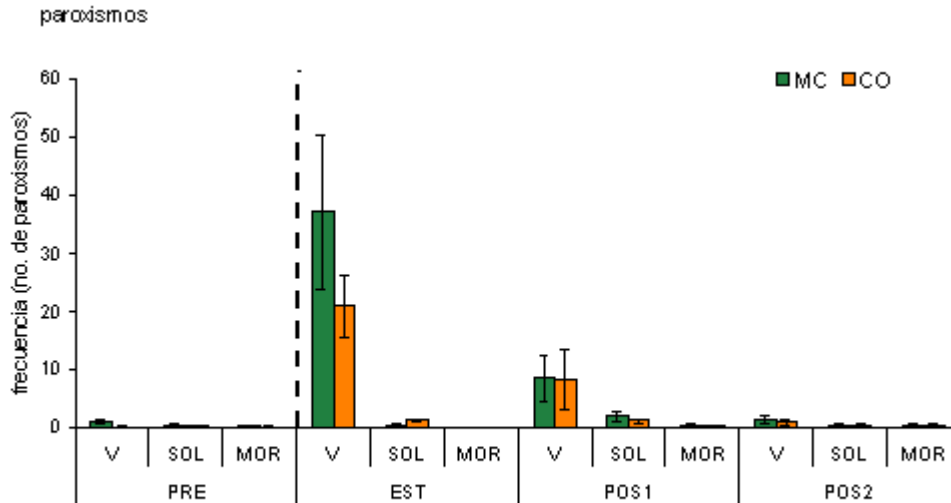
**Figura 10-** Espigas unitarias a lo largo del registro. Hubo más espigas unitarias durante el intervalo EST en vigilia en el grupo MC.

En cuanto a los trenes de espigas se encontraron diferencias significativas entre la interacción de grupo nutrimental, estado de vigilancia y tiempo ( $P < 0.0002$ ) (*Apéndice Tabla R*). Siendo significativamente mayor la cantidad de trenes durante vigilia en el intervalo EST tanto para Co como MC para el resto de los intervalos y en comparación con ambos grupos, teniendo el grupo MC significativamente más trenes que el grupo Co durante este mismo intervalo (*Apéndice Tabla S*) (**Fig 11**).



**Figura 11-** Los trenes de espigas fueron significativamente más frecuentes en el grupo CO y MC en EST en vigilia. De igual manera entre el grupo MC tuvo significativamente más trenes en vigilia en EST que el grupo CO.

Al evaluar los paroxismos de nuevo se encontraron diferencias significativas entre los estados de vigilancia y el tiempo ( $P < 0.0001$ ) (*Apéndice Tabla T*).



**Figura 12-** Frecuencia de paroxismos. La proporción de paroxismos es mayor durante vigilia tanto en EST como en POST1 tanto para el grupo CO como para el grupo MC. Es significativamente mayor MC en EST que el resto del registro excepto CO en EST.

En vigilia fue significativamente mayor la cantidad de paroxismos durante EST y POST1 tanto para el grupo MC como para el grupo CO en relación con el resto del registro (*Apéndice Tabla U*) (**Fig 12**). Lo que es persistente en toda la actividad eléctrica epileptiforme es que hay una mayor frecuencia de aparición de ésta durante el periodo de EST y en vigilia, sin embargo, en gran medida podría ser resultado directo de la estimulación farmacológica. A pesar de esto es importante notar que el grupo MC presenta estas activaciones con mayor frecuencia que el grupo CO tal vez por una mayor propensión o facilitación de aparición de la actividad ictal resultado del régimen nutricional además del insulto farmacológico.

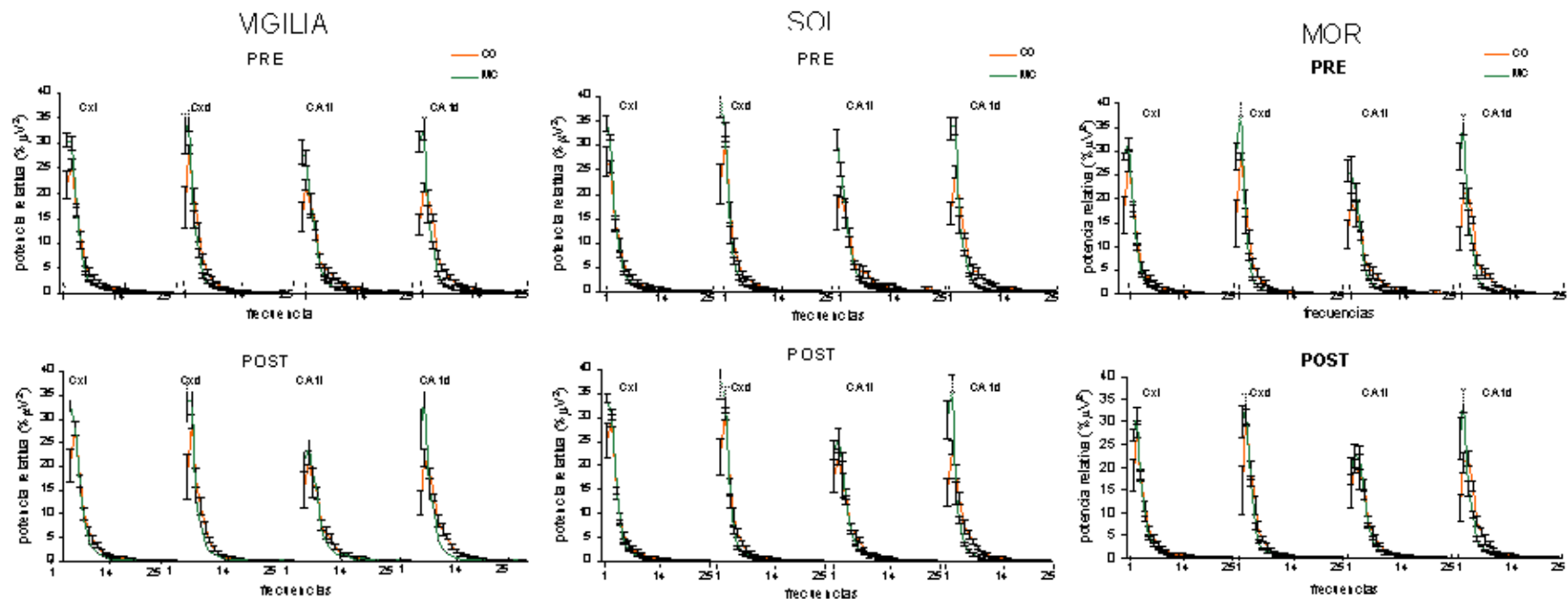
#### *-ESPECTROS DE POTENCIA-*

A partir de los registros análogos, utilizando un transformador matemático analógico-digital se convirtió la señal en registro digital. A partir del registro ya



digitalizado se crearon dos archivos por registro dividiendo el registro en pre y post-estimulación (PRE, POST). Utilizando el programa CAPTUSEN se revisaron los registros enteros y se eligieron aproximadamente 60 segmentos por cada estado de vigilancia denominados como Vigilia (Vig), Sueño de ondas lentas (SOL) y Sueño MOR (SMOR) para las 4 estructuras registradas. Los segmentos elegidos fueron analizados para obtener los espectros de potencia respectivos tanto para cada estado de vigilancia como para cada estructura registrada.

Se obtuvieron los espectros de potencia de los estados de vigilancia para ambos grupos. La potencia relativa durante los 3 estados de vigilancia Vigilia, SOL y MOR. Para todas las potencias relativas fueron mayores en el animal MC que en el CO en las frecuencias bajas **(Fig 13)**.



**Figura 13-** Espectros de potencia relativa en PRE y en POST para cada estado de vigilancia para cada estructura registrada: Corteza prefrontal izquierda (Cxi), Corteza prefrontal derecha (Cxd), Hipocampo izquierdo (CA1i) e Hipocampo derecho (CA2d). En todas las gráficas las frecuencias de 2 y 3 Hz son significativamente más altas en el grupo MC que en el grupo CO durante PRE, sin embargo en POST La diferencia disminuye entre CO y MC en los 3 estados de vigilancia en CA1 de hipocampo izquierdo (CA1i). Hay diferencias significativas entre PRE y POST en vigilia en la frecuencia de 6 Hz, entre estructuras en Vigilia en la banda de 7Hz, en SOL en la banda de 15 Hz y en MOR en la banda de 8 Hz.

Para los 3 estados de vigilancia la potencia relativa de las bandas de frecuencias bajas (1-5 Hz) fue mayor tanto para el grupo CO como para el grupo MC. A partir de la banda de 4 Hz hay una caída drástica en la potencia sin diferencias entre los grupos, entre estructuras y entre PRE y POST.

Para ambos grupos la potencia relativa de 2 a 4 Hz fue mayor en cortezas que en hipocampos en PRE. La potencia relativa en las primeras bandas de frecuencia (1-4 Hz) fue mayor en la corteza prefrontal derecha (Cxd) y en hipocampo derecho (CA1d) durante PRE en el grupo MC disminuyendo en POST. Adicionalmente la potencia relativa en la banda de frecuencias bajas fue menor en el hipocampo izquierdo (CA1i) usando como referencia el derecho, particularmente durante POST. El grupo CO en contraste mantuvo una potencia relativa equivalente en ambas cortezas así como en ambos hipocampos en los 3 estados de vigilancia tanto en PRE como en POST.

En el hipocampo derecho entre los grupos nutrimentales hubo una diferencia en potencia de las bandas de 5 a 9 Hz, siendo mayor la potencia en el grupo CO que en el MC y dicha diferencia disminuyó en POST.

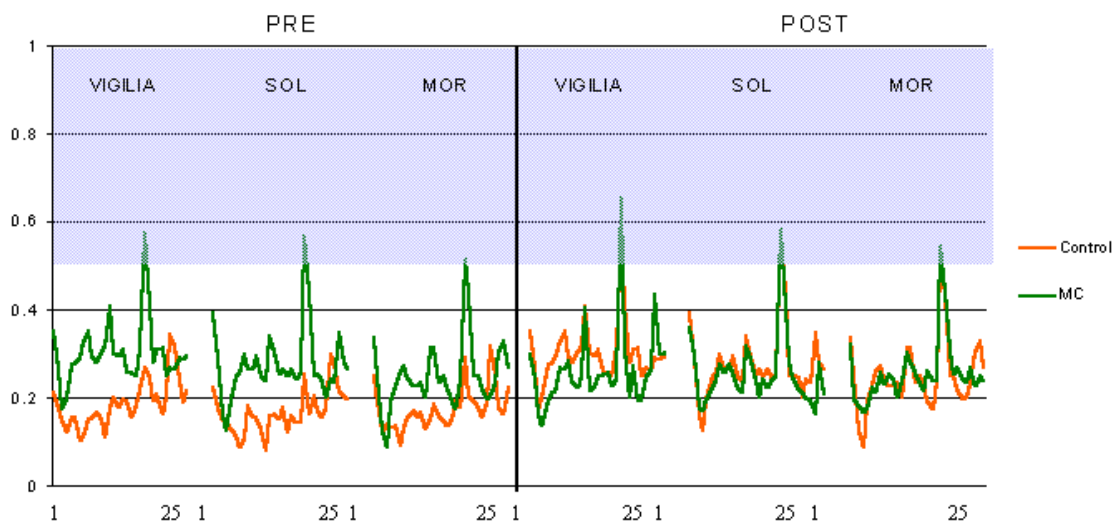
Las bandas de 1 a 3 Hz tuvieron una mayor potencia relativa durante Vigilia y SOL en el grupo MC, particularmente durante SOL, que el grupo CO. En MOR el grupo MC disminuyó la potencia relativa de la banda de 2 Hz en POST de Cxd y CA1i, casi llegando a una potencia similar al grupo CO.

#### *-CORRELACIÓN INTER E INTRAHEMISFÉRICA-*

Los análisis de correlación intra e interhemisférica fueron hechos para determinar si la estimulación con PTZ después del primer cuarto del registro ejerce un efecto sobre los

espectros de potencia en estructura o hemisferio en particular en relación con el periodo pre o post estimulación.

Al analizar la correlación que existe entre la activación y la potencia de las estructuras en cada hemisferio se encontró que la correlación del hemisferio izquierdo en los tres estados de vigilancia es similar tanto en PRE como en POST (**Fig 14**).

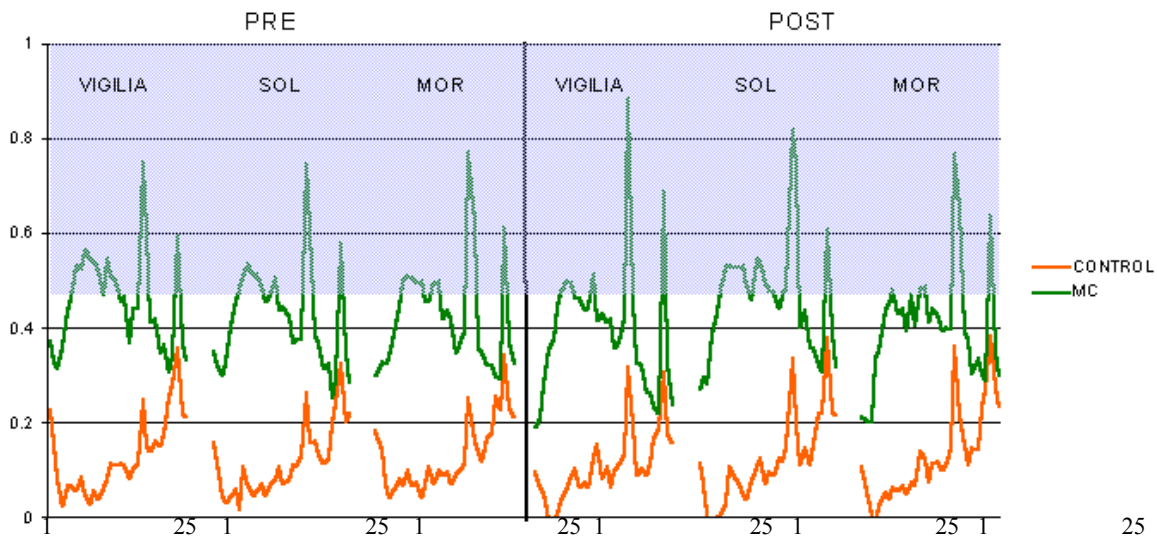


**Figura 14-** Correlación intrahemisférica del hemisferio izquierdo. La significancia de la correlación de Poisson ( $>0.5$ ) está marcada con la barra gris. La correlación fue significativa en la banda de 22 Hz tanto en PRE como en POST en el grupo MC. En POST el grupo CO la banda de 22 Hz en los 3 estados de vigilancia tuvo una correlación significativa

La correlación aumenta en el animal CO en POST de modo que hay un patrón de correlación similar en ambos grupos lo que pudiera significar que ambos tienen un control o una comunicación similar entre las estructuras del mismo hemisferio. Ambos tienen un aumento ligero en la correlación durante POST, sin embargo esto no es significativo.

La correlación de las estructuras en el hemisferio derecho es mucho mayor en el animal MC tanto en PRE como en POST que el animal CO en todos los estados de vigilancia (**Fig 15**). El animal CO exhibe una correlación similar del hemisferio derecho que del izquierdo,

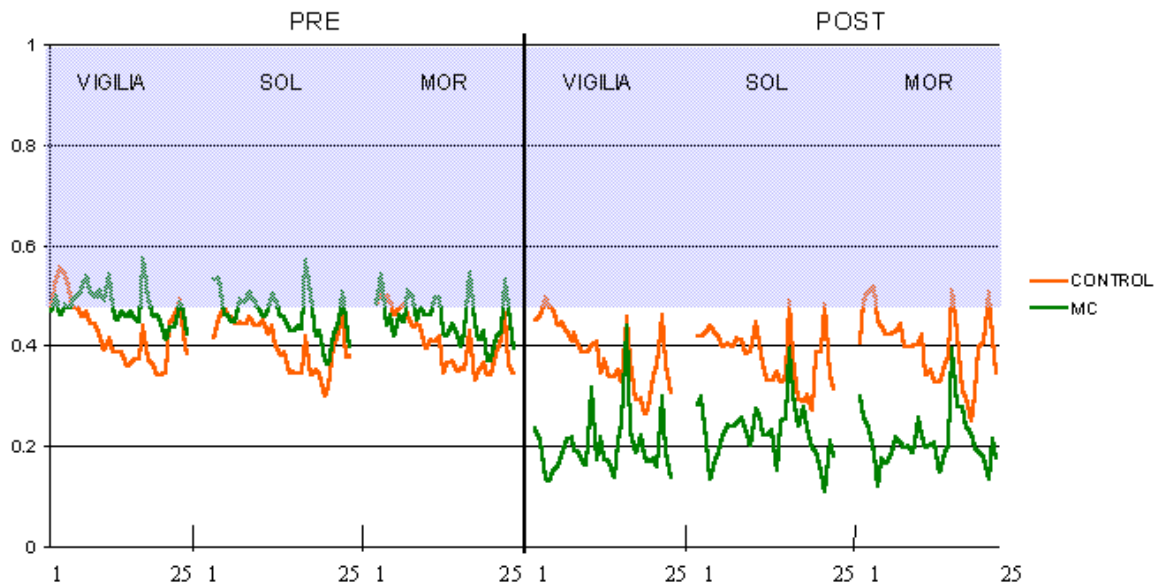
sin embargo el animal MC presenta una correlación significativamente mayor entre las estructuras y de manera similar entre los 3 estados de vigilia del hemisferio derecho que del izquierdo lo que podría indicar que existe una comunicación directa y posiblemente indiscriminada entre éstas en el hemisferio derecho.



**Figura 15-** Correlación intrahemisférica del hemisferio derecho. La significancia de la correlación de Poisson ( $>0.5$ ) está marcada con la barra gris. La correlación fue significativa en las bandas de 6 a 16 Hz y 22 a 24 Hz y la banda de 30 Hz en el grupo MC. La banda de 22 Hz aumenta su correlación en el grupo CO durante POST sin embargo la correlación no es significativa.

La correlación interhemisférica entre las cortezas orbitales mostró que había una mayor correlación entre éstas durante PRE tanto para el grupo CO como para el grupo MC, sin embargo en el periodo POST hay una disminución drástica en la correlación de cortezas del grupo MC (**Fig 16**). El grupo CO, por otro lado, no muestra una caída tan notoria en la correlación de los espectros de frecuencia de las cortezas. Esta diferencia en la correlación nos muestra que en el animal CO los mecanismos de regulación en la activación de las cortezas es similar por lo que la respuesta en la activación en POST está controlada de manera similar en ambos hemisferios, los cuales de igual modo están correctamente comunicados. El grupo MC presenta una caída drástica en la correlación de las cortezas.

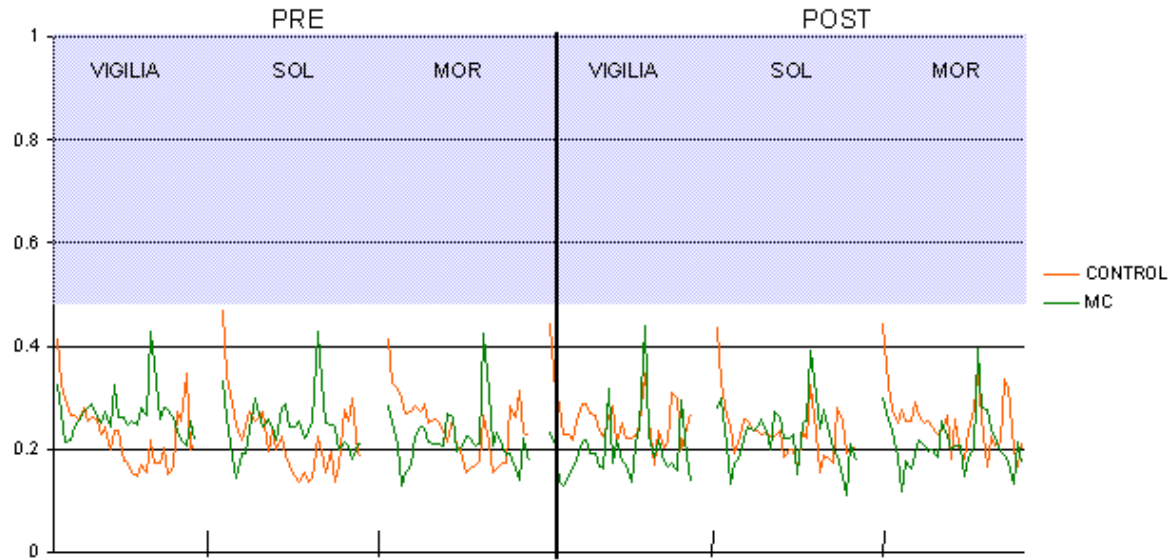
Esta separación en la correlación muestra que a partir del insulto farmacológico hay una “separación” de los hemisferios.



**Figura 16-** Correlación interhemisférica de la Corteza Orbital. La significancia de la correlación de Poisson ( $>0.5$ ) está marcada con la barra gris. La correlación de las frecuencias bajas en PRE fue significativa en el grupo CO, mientras que la mayoría de las frecuencias en todos los estados de vigilancia del grupo MC en las cortezas orbitales tuvo una correlación alta. En POST la correlación de todas las frecuencias en el grupo MC disminuyó observando sólo una similitud en la correlación similar entre el grupo MC y el grupo CO en la banda de 22 Hz.

Los mecanismos de control de cada hemisferio muestran una diferencia en la regulación y comunicación con cada corteza lo cual podría ser producto de una vulnerabilidad en la comunicación interhemisférica producto del impacto nutrimental.

La correlación interhemisférica de los hipocampos fue más consistente entre el periodo PRE y POST para ambos grupos nutrimentales (**Fig. 17**). Hay una potencia alta en ambos hipocampos de frecuencias bajas así como de la banda de 22 Hz en ambos grupos.



<sup>1</sup> **Figura 17-** <sup>25</sup> <sup>1</sup> Correlación <sup>25</sup> <sup>1</sup> interhemisférica <sup>25</sup> <sup>1</sup> de CA1 de hipo<sup>25</sup> <sup>1</sup>campos. La <sup>25</sup> <sup>1</sup> significancia de <sup>25</sup> <sup>1</sup> la <sup>25</sup> <sup>1</sup> correlación <sup>25</sup> <sup>1</sup> de Poisson (>0.5) está <sup>25</sup> <sup>1</sup> marcada <sup>25</sup> <sup>1</sup> con <sup>25</sup> <sup>1</sup> la <sup>25</sup> <sup>1</sup> barra <sup>25</sup> <sup>1</sup> gris. Los <sup>25</sup> <sup>1</sup> índices <sup>25</sup> <sup>1</sup> de <sup>25</sup> <sup>1</sup> correlación <sup>25</sup> <sup>1</sup> son <sup>25</sup> <sup>1</sup> similares <sup>25</sup> <sup>1</sup> entre <sup>25</sup> <sup>1</sup> grupos <sup>25</sup> <sup>1</sup> nutrimentales <sup>25</sup> <sup>1</sup> y <sup>25</sup> <sup>1</sup> entre <sup>25</sup> <sup>1</sup> estados <sup>25</sup> <sup>1</sup> de <sup>25</sup> <sup>1</sup> vigilancia <sup>25</sup> <sup>1</sup> tanto <sup>25</sup> <sup>1</sup> en <sup>25</sup> <sup>1</sup> PRE <sup>25</sup> <sup>1</sup> como <sup>25</sup> <sup>1</sup> en <sup>25</sup> <sup>1</sup> POST.

## ***DISCUSION***

Los efectos que tiene una alimentación inadecuada sobre los sistemas biológicos pueden tener repercusiones en la manera en la que responden éstos a distintos estímulos ambientales. La malnutrición proteínica prenatal provoca cambios en la anatomía, fisiología y funcionalidad del SNC de los mamíferos como el del ser humano y de la rata lo cual se puede observar en la manera en que se integra y utiliza la información en estos organismos. Por lo que es de importancia buscar las diferencias que pudiera tener un sistema animal con malnutrición en respuesta a un insulto de gran relevancia para las poblaciones humanas como es la actividad epileptogénica.

A lo largo del presente trabajo encontramos una gran cantidad de diferencias significativas relacionadas con el tiempo. La mayoría coincidieron en cambios o diferencias dentro de los mismos grupos entre los intervalos de tiempo y el periodo de estimulación.

Se confirmó que existen diferencias de sensibilidad en la administración de PTZ entre los animales bien nutridos y aquellos con malnutrición como ya se había observado con otras drogas (González-Hernández et al 2008, Fukuda et al 2007, Costa-Cruz et al 2006). En trabajos de inducción por “*kindling*” eléctrico de animales con malnutrición proteínica prenatal se encontró una mayor resistencia al desarrollo completo del fenómeno (Austin-Lafrance et al 1991, Bronzino et al 1990) lo cual fue consistente con lo observado en nuestro modelo de “*kindling*” farmacológico con PTZ. Sin embargo, la resistencia al PTZ del grupo MC en este trabajo se contrapone a lo encontrado previamente por Palencia quien reportó una disminución en el umbral a PTZ en animales malnutridos a base de tortillas de maíz (Palencia et al 1996). Esta diferencia en la sensibilidad a la droga podría deberse no sólo a la dosis utilizada sino a que la dieta a base de tortillas es una dieta ineficiente e



inespecífica ya que carece de la mayoría de los componentes dietarios necesarios y el estado general del animal se encuentra comprometido de manera distinta lo cual lo vuelve un sistema altamente vulnerable. El PTZ altera la funcionalidad de los receptores GABA<sub>A</sub> y la recaptura de glutamato (Rocha et al 1996) promoviendo la excitabilidad en las redes neuronales lo cual explica la reactividad a dosis bajas en el animal CO. La resistencia al tratamiento del animal MC podría ser producto de re configuraciones en las redes neuronales (Morgane et al 1993), alteraciones en las vías metabólicas periféricas (Castañón-Cervantes et al 2002), alteraciones en la transcripción y traducción de subunidades de los receptores GABAérgicos (Steiger et al 2003) y el modo en el que éstos se modulan (Tonkiss et al 2003) lo que se encuentra alterado en el animal malnutrido. La facilitación y reactividad al PTZ en el animal MC durante el registro se contrapone a la alta resistencia observada durante la progresión del “*kindling*”. Puede inferirse entonces que el daño provocado por el fármaco en las primeras dosis del proceso del “*kindling*” no es tan notorio por el desequilibrio que presenta el animal malnutrido en los mecanismos o vías de integración de la información. Una vez rebasado el límite de tolerancia a la droga, el sistema malnutrido puede reaccionar de manera más severa por cambios en el SNC que facilita su acción. Esto podría explicar el desarrollo más lento del proceso de “*kindling*” así como la gravedad de las conductas epilépticas.

Al iniciar la evaluación conductual se utilizó la escala de Racine (Racine 1972) como base para la evaluación de la progresión de la severidad de las etapas del “*kindling*”, sin embargo encontramos conductas no descritas en esta escala. Se presentaron y calificaron conductas como erguimiento y convulsiones con salto las cuales habían sido descritas y utilizadas en un estudio de neuroetología en un modelo de crisis audiogénicas (García-Cairasco et al 2004) y en la escala de Racine modificada por Pinel y Rovner que también

incluye “wild running” en este mismo trabajo. Asociado al erguimiento de las extremidades algunos animales presentaron una rigidez y erguimiento de la cola vertical o paralela al cuerpo lo cual ha sido identificado como el fenómeno de Straub (Straub tail) en la reacción principalmente a psicoactivos y a distintos tipos de estimulación eléctrica (Bilbey et al 1960, Capasso 2007), sin embargo nunca había sido descrito en trabajos con PTZ.

A pesar de que se ha observado que el animal malnutrido presenta actividad aumentada al inicio del periodo luminoso (Durán et al 2005, Aguilar-Roblero et al 1997) la conducta estereotipada del animal CO fue mayor que la del animal MC al inicio del registro por lo que la transición del periodo oscuro al luminoso pudiera tener un mayor efecto en la rata CO que en la MC a causa del “*kindling*”. Ambos grupos, al momento de la estimulación y en adelante, presentaron patrones conductuales dispares y fragmentados lo que demuestra que la droga promueve hiperexcitabilidad e hiperactividad y que puede persistir tiempo después de la inducción.

El grupo CO mantuvo por más tiempo los movimientos masticatorios posterior al tiempo de estimulación mientras que el grupo MC fue más propenso a presentar conductas de mayor severidad como los espasmos y caídas por convulsión, lo que puede indicar que la reacción al “*kindling*” con PTZ es procesada de manera diferente en el animal malnutrido.

El animal MC presentó una mayor frecuencia de éstas conductas pero tuvo una recuperación conductual rápida. Al tener deficiencias metabólicas el animal malnutrido es incapaz de mantener por periodos más largos la crisis conductual ya que se ha sugerido que uno de los mecanismos de cese de las crisis epilépticas es el agotamiento rápido de los reservorios energéticos celulares disparado por la actividad epiléptica (Nehlig et al 2006).

A pesar de haber diferencias notorias en la conducta de los animales con distinto tratamiento nutrimental no fue tan notoria la diferencia en cuanto a la arquitectura de

sueño. De manera equivalente para ambos grupos el SOL tiene un aumento drástico posterior al periodo de EST y se mantiene a lo largo del registro. El aumento súbito en la duración de SOL se ha visto en los procesos de recuperación quirúrgica (Tang et al 2007) y en la recuperación de la privación del sueño por fragmentación (Khatami et al 2008, Shea et al 2008). Podemos pensar que tanto el animal MC como el CO responden al insulto farmacológico con el aumento selectivo de SOL como mecanismo de recuperación. Se ha visto que en animales con “*kindling*” amigdalino un estímulo al inicio del periodo luminoso disminuye SOL y MOR mientras que un estímulo al inicio del periodo oscuro aumenta SOL mas no MOR (Yi et al 2004). En caso del animal MC el rebote de SOL podría también ser respuesta al estímulo en la fase luminosa que al estar en desfase del ciclo responde como en el caso del estímulo en la fase oscura. La abolición del sueño MOR en el periodo EST en ambos grupos es la respuesta al periodo convulsivo, sin embargo el animal malnutrido tiene una compensación del sueño MOR el cual supera la duración basal de éste. A pesar de no ser una diferencia significativa, la proporción de MOR del animal malnutrido tiene un rebote en duración de casi el doble de tiempo en el último intervalo de tiempo de registro con respecto al inicial. El aumento en la duración de los episodios de sueño MOR se ha observado posterior a privación selectiva del éste en el animal malnutrido (McKenna et al 2007, Cintra et al 2002) por lo que podemos intuir que el insulto ictal podría estar causando una abolición del sueño MOR que el sistema pudiera interpretar como una privación selectiva del sueño MOR por lo cual presenta un rebote en la duración de esta fase al final del registro.

Se ha reportado que en la rata la proporción de SOL compone cerca del 80% de la actividad eléctrica durante el periodo de sueño (Frank et al 1997) siendo el poder espectral de delta

del sueño profundo el más prominente. Esta banda de frecuencia está potenciada tanto en el animal MC como en el CO en todos los estados de vigilancia en este trabajo lo que nos lleva a pensar que la presencia de esta banda de frecuencia es de gran relevancia para el bienestar y recuperación de los animales con “*kindling*”. Se ha probado que estas frecuencias de disparo son prominentes en los periodos de sinaptogénesis y arborización durante la gestación (Frank et al 1997), en SOL en el periodo de recuperación de una intervención quirúrgica (Tang et al 2007) y en el periodo de recuperación después de trabajos de privación de sueño (Vyazovskiy et al 2007). Se ha propuesto que la actividad lenta durante la vigilia quieta (1.5-6.5 Hz) después de eventos de privación es un indicativo del aumento en la propensión al sueño como parte del mecanismo de recuperación (Vyazovskiy et al 2005) y que una mayor potencia de frecuencias más altas (15-35 Hz) implica una disminución en la eficiencia del sueño (Sinha 2008). Por lo anterior podemos pensar que como resultado del daño generado por el “*kindling*” farmacológico tanto en la configuración natural de las redes neurales como en la arquitectura del sueño, los mismos mecanismos de recuperación fisiológica permiten y promueven dicha actividad eléctrica en todos los estados de vigilancia.

En resumen, hay una potenciación de las bandas de frecuencia bajas de manera equivalente en SOL como en vigilia lo cual podría sugerir que hay un desequilibrio en la alternancia y activación de los centros neurales responsables de las diferentes frecuencias y como resultado hay una manutención sostenida de las mismas frecuencias. Dado que los animales utilizados para realizar el registro son animales previamente estimulados, las frecuencias bajas, las cuales sirven como un sustrato permisivo de la actividad epileptiforme, pudieran estar potenciadas por el protocolo de inducción.

Se ha reportado que la densidad de potencia del EEG en SOL de recuperación posterior a la privación de sueño era predominantemente de ondas delta (Vyazovskiy et al 2007) lo que explica la potenciación de ésta banda de frecuencia. Mistlberger (et al 1987) encontró que en ratas con el núcleo supraquiasmático lesionado, y por lo tanto con la ritmicidad circadiana abolida, la presencia de ondas delta durante el periodo de vigilia estaba correlacionado con un aumento en la propensión al sueño lo que explicaría que la potencia de las bandas de frecuencia de la actividad delta estuvieran aumentadas en todos los animales posterior a la crisis ictal. Lo observado en el presente trabajo nos lleva a pensar que para el animal estimulado con PTZ, independientemente de la dieta, existe una propensión a entrar a SOL como un mecanismo de recuperación a la crisis generada, que éste tiene un aumento en la duración a partir de la estimulación, y que la potenciación de las frecuencias bajas en todos los estados de vigilancia está dada tanto por la disposición a SOL así como del mecanismo intrínseco de reestablecimiento. Sin embargo, se ha sugerido con anterioridad que existe una facilitación de la actividad eléctrica epileptiforme por las propiedades eléctricas de las oscilaciones lentas durante SOL (Timofeev et al 2004, Nita et al 2007), las cuales al presentarse en todos los estados de vigilancia podrían estar sirviendo de sustrato para la activación y generación de actividad eléctrica epileptiforme en ambos grupos. Durante EST la generación de la actividad ictal está en función de la acción del fármaco por lo que en este periodo hay una gran cantidad de estas activaciones, sin embargo hay una facilitación de éstas también en vigilia en el intervalo POST1. Se ha propuesto en otros trabajos que el periodo de vigilia presenta un aumento en la potenciación neta de la fuerza sináptica mientras que el sueño, al contrario, sirve como un periodo depresor (Vyazovskiy et al 2008) por lo que podríamos pensar que la facilitación en vigilia está dada por esta fuerza sináptica aunada a la alta potencia de las frecuencias bajas.

La correlación mantuvo un patrón similar para cada estado de vigilancia tanto en PRE como en POST en ambos grupos lo cual nos indica que la comunicación entre los hemisferios es similar tanto para el animal CO como para el animal MC sugiriendo que la comunicación interhemisférica a nivel de las estructuras intermedias pudiera no estar siendo afectada por la dieta. Vyazovskiy et al (2002) encontraron que en el EEG de la rata la potencia de las frecuencias bajas es mayor en el hemisferio izquierdo al inicio del periodo de reposo y conforme transcurre éste, la potencia se transfiere al hemisferio derecho. En el presente trabajo no encontramos dominancia hemisférica en el animal CO, pero sí observamos una inversión en la dominancia en el animal malnutrido. La pérdida de la dominancia en el animal CO puede estar dada a que la comunicación interhemisférica es alta como resultado de modificaciones en las redes neuronales por causa del “*kindling*”. En el caso del animal malnutrido hay una dominancia en la potencia de frecuencias bajas del hemisferio derecho durante PRE, sin embargo se pierde en POST. El animal malnutrido pudiera tener “independencia hemisférica”, siendo el hemisferio izquierdo el hemisferio con mayor control o restricción de las activaciones y el hemisferio derecho, irrestricto y con mayor facilidad de propagación, potenciación y descontrol durante PRE. En el periodo POST cuando las activaciones sucedidas en un hemisferio son fácilmente propagadas al hemisferio contrario, hay una sincronización facilitada de ambos hemisferios y así se pierde la dominancia. Los análisis de correlación muestran lo mismo, la correlación entre las estructuras del hemisferio derecho es mayor que en el izquierdo tanto en PRE como en POST así como la correlación entre hipocampos, mostrando que hay una comunicación directa entre estas dos estructuras lo cual puede no propagarse de manera directa hacia la corteza prefrontal.

El animal malnutrido presenta un efecto permisivo de la señal eléctrica en el hemisferio derecho, el cual lleva un mismo circuito de comunicación entre las estructuras mientras que el hemisferio izquierdo tiene valores de correlación menores lo que podría estar probando que existe todavía un filtro o regulación de la información en el hemisferio dominante. La sincronización y modulación del EEG entre los hemisferios se da en gran medida a través del cuerpo calloso, se ha probado que en el animal malnutrido la inhibición o regulación de la propagación de un estímulo a través de esta estructura se encuentra atenuado (Pinto et al 2008) a causa de las modificaciones morfológicas y electrofisiológicas de esta y otras estructuras aledañas (Morgane et al 1993) o posiblemente pudiera ser por las diferencias intrínsecas de cada hemisferio, como por ejemplo la mera expresión de genes la cual ya se ha probado puede darse de manera diferencial (Moskal et al 2006).

En el animal malnutrido la potencia relativa tanto en PRE como en POST de las bandas de frecuencia bajas, fueron menores en el hipocampo izquierdo en comparación con ambas cortezas y con el hipocampo derecho. Se ha visto en animales con malnutrición proteínica que hay un aumento de la inhibición tónica propuesto por un aumento en la liberación de GABA de las interneuronas en hipocampo (Chang et al 2003), sin embargo la diferencia en la potencia exhibida sugiere que hay una diferencia en la capacidad de reclutamiento neuronal, mecanismos de freno y procesamiento entre ambos hipocampos lo cual puede ser resultado de los efectos de la malnutrición.

Al ser notorio que existe una correlación diferencial entre la activación de estructuras que comparten una misma vía de comunicación podemos concluir que en el animal malnutrido los mecanismos de regulación por un insulto ictal son, en un principio, regulados por el hemisferio dominante mientras que el control de la propagación de la actividad eléctrica epileptiforme en el hemisferio contralateral se pierde una vez instalado el insulto.

De manera general este trabajo reforzó y contribuyó a lo reportado previamente sobre la ineficacia de los sistemas de control en el animal con malnutrición proteínica prenatal, la alteración en las vías de comunicación entre estructuras, las modificaciones en los mecanismos de recuperación y homeostasis y probó la “independencia” de la activación interhemisférica.



## ***CONCLUSIONES***

- ♦ El animal malnutrido crónico tiene una resistencia inicial al tratamiento con PTZ mayor que el animal control, sin embargo es más propenso a crisis de mayor severidad una vez que se alcanza el estado de estimulación total.
- ♦ Las crisis convulsivas con PTZ alteran la arquitectura de sueño de la misma forma tanto de los animales malnutridos como en los control.
- ♦ Ambos grupos presentan una potenciación de las frecuencias de onda bajas, resultado de la estimulación con PTZ.
- ♦ Tanto en el animal CO como en el animal con malnutrición crónica hay una respuesta rápida de recuperación a un evento paroxístico, la cual se traduce como un aumento en duración de SOL.
- ♦ La comunicación interhemisférica en el animal malnutrido es diferente entre ambos hemisferios, mientras que en el animal control hay una comunicación homóloga en ambos hemisferios. Se propone en el animal malnutrido que existe un control en la comunicación regulada entre estructuras del hemisferio dominante, no así en el hemisferio contralateral.

## APENDICE

=====						Diferencias significativas en conductas estereotipadas			
Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)	Comparación cada media hora			
-----						CONTROL VS MALNUTRIDO CRONICO	TUKEY 1%	DUNCAN 1%	
Entre sujetos	7,892.37	17							
A	87.08	1	87.08	0.18	0.6808	conducta 2 a2b2c4 -	02:00 a1b2c4	556	6.417 6.417
Sujetos intra ç pos	7,805.28	16	487.83						
Intra sujetos	277,725.01	3,726							
B	107,687.93	12	8,973.99	51.03	0.00001	conducta 5 a1b5c1-	00:30 a2b5c1	9.778	6.417 6.417
AB	87.68	12	7.31	0.04	1	conducta 5 a2b5c5-	02:00 a1b5c4	5.445	6.417 6.417
B x sujetos int grupos	33,762.84	192	175.85						
C	5,495.21	15	366.35	5.43	0.00001	conducta 5 a2b5c5-	02:30 a1b5c5	6.889	6.417 6.417
AC	1,153.04	15	76.87	1.14	0.3209	conducta 11 a1b11c1	00:30 a2b11c1	19.223	6.417 6.417
C x sujetos int grupos	16,186.15	240	67.44						
BC	29,476.96	180	163.76	5.98	0.00001	conducta 11 a1b11c2	01:00 a2b11c2	7.556	6.417 6.417
ABC	5,034.14	180	27.97	1.02	0.4093	conducta 11 a2b11c4	02:00 a1b11c4	6.333	6.417 6.417
BC x sujetos i a grupo	78,841.06	2,880	27.38						
Total	285,617.38	3,743				conducta 11 a2b11c5	02:30 a1ab11c5	19.111	6.417 6.417
						conducta11 a1b11c10	05:00 a2b11c10	5.669	6.417 6.417
						conducta 11 a2b11c13	06:30 a1b11c13	5.222	6.417 6.417

**Tablas A y B.** Diferencias significativas entre las conductas estereotipadas cada media hora de registro entre el grupo Control y el Malnutrido Crónico. **A-**La tabla a la izquierda es el análisis de varianza, se encontraron diferencias significativas entre las conductas, el tiempo y la interacción entre las conductas y el tiempo **B-** En la tabla derecha a partir de las diferencias se realizaron comparaciones múltiples. Según la prueba de Tukey 1% se encontraron diferencias significativas en la conducta 2 (levantamiento no soportado) a las 2 horas de registro, 5 (caminata) a la media hora y a las 2 y media horas y 11 (huesmeo) a la media hora, a la hora y a las 2 horas y media de registro.

=====						Diferencias significativas en conductas epilépticas			
Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)	Comparación cada media hora			
-----						CONTROL VS MALNUTRIDO CRONICO	TUKEY 1%	DUNCAN 1%	
Entre sujetos	1,148.96	17							
A	108.62	1	108.62	1.67	0.2125	conducta 3 a2b3c5	02:30 a1b3c5	5.222	6.07 6.07
Sujetos intra ç pos	1,040.34	16	65.02						
Intra sujetos	203,563.26	4,302							
B	4,578.74	14	327.05	5.29	0.00001	conducta 3 a1b3c6	03:00 a2b3c6	5.222	6.07 6.07
AB	838.33	14	59.88	0.97	0.5137	conducta 3 a1b3c7	03:30 a2b3c7	10.116	6.07 6.07
B x sujetos int grupos	13,840.63	224	61.79						
C	9,657.49	15	643.83	13.88	0.00001	conducta 5 a2b5c1	00:30 a1b5c1	4.667	6.07 6.07
AC	976.72	15	65.11	1.4	0.1458	conducta 9 a2b9c5	02:30 a1b9c5	5	6.07 6.07
C x sujetos int grupos	11,133.98	240	46.39						
BC	27,914.71	210	132.93	3.45	0.00001	conducta 10 a2b10c5	02:30 a1b10c5	17.441	6.07 6.07
ABC	5,256.28	210	25.03	0.65	0.9999	conducta 13 a2b13c5	02:30 a1b13c5	28.669	6.07 6.07
BC x sujetos i a grupo	129,366.38	3,360	38.5						
Total	204,712.22	4,319				conducta 13 a2b13c6	03:00 a1b13c6	6.333	6.07 6.07
						conducta 13 a2b13c9	04:30 a1b13c9	7.889	6.07 6.07

**Tablas C y D.** Diferencias significativas entre las conductas epilépticas cada media hora de registro entre el grupo Control y el Malnutrido Crónico. **C-**La tabla a la izquierda es el análisis de varianza, se encontraron diferencias significativas entre las conductas, entre los intervalos de tiempo y entre la interacción de conductas en el tiempo **D-** En la tabla derecha a partir de las diferencias se realizaron comparaciones múltiples según la prueba de Tukey 1% se encontraron diferencias significativas en la conducta 3 (movimientos masticatorios) a las 3 horas y media de registro, 10 (caída) a las 2 horas y media y 13 (espasmos) a las 2 horas y media, a las 3 horas y a las 4 horas y media de registro.

ANÁLISIS:					
Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre sujetos	509.08	15			
A	30.24	1	30.24	0.88	0.6344
Sujetos intra pos	478.84	14	34.2		
Intra sujetos	203,673.78	176			
B	102,537.41	2	51,268.70	79.95	0.00001
AB	659.95	2	329.98	0.51	0.608
B x sujetos i grupos	17,955.14	28	641.25		
C	440.79	3	146.93	5.11	0.0045
AC	37.86	3	12.62	0.44	0.73
C x sujetos i grupos	1,207.61	42	28.75		
BC	46,904.80	6	7,817.47	19.76	0.00001
ABC	691.05	6	115.17	0.29	0.939
BC x sujetos a grupos	33,239.18	84	395.7		
Total	204,182.86	191			

a-edo nut (mc, co) b-edo de vig (w, s, r) c-tiempo cada 2 horas

F-

Source	DF	SS	MS	F	P
Total	63	57336.457	910.10249		
Dieta	1	316.84004	316.84004	0.46580438	0.50606
tiempo	3	30265.948	10088.649	25.14545	< .0001
Interaction	3	379.97994	126.65998	0.31569362	0.81393
Subjects (matching)	14	9522.797	680.19979	1.6953637	0.09354
Error	42	16850.892	401.21172		

G-

Source	DF	SS	MS	F	P
Total	63	39145.374	621.35515		
Dieta	1	173.58068	173.58068	0.31403985	0.58407
tiempo	3	16266.827	5422.2756	15.385469	< .0001
Interaction	3	164.69186	54.897286	0.15576864	0.92539
Subjects (matching)	14	7738.2839	552.73456	1.5683601	0.12928
Error	42	14801.991	352.42836		

H-

Source	DF	SS	MS	F	P
Total	63	5314.6095	84.358881		
Dieta	1	189.75063	189.75063	2.1154779	0.16787
tiempo	3	850.43689	283.47896	4.2069948	0.01088
Interaction	3	188.59688	62.865625	0.93296292	0.43325
Subjects (matching)	14	1255.7488	89.696341	1.3311465	0.23062
Error	42	2830.0763	67.38277		

**Tablas E y F,G,H.** Diferencias significativas entre la duración en cada estado de vigilancia entre cada intervalo de tiempo entre los grupos nutrimentales. **E-**La tabla a la izquierda es el análisis de varianza, se encontraron diferencias significativas entre estados de vigilancia (B) y entre la interacción de los estados de vigilancia por intervalo de tiempo (BC). **F,G,H-** Tablas ubicadas a la derecha. Resultados estadísticos de ANOVAs para analizar las diferencias entre grupos nutrimentales y tiempo por cada estado de vigilancia. (Se utilizó el programa *Kaleidagraph* de *Synergy Software*). **F-**Resultados de Vigilia. Sólo hubo diferencias significativas en el tiempo. **G-**Resultados de SOL. Sólo hubo diferencias significativas en el tiempo. **H-** Resultados de SMOR. No hubo diferencias significativas

Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre bloques	100,157.07	17	5,891.59		
Factor A	6,517.01	1	6,517.01	1.11	0.3077
Sujetos intra grupos	93,640.06	16	5,852.50		
Intra sujetos	611,296.25	54			
Factor B	255,424.15	3	85,141.38	13.1	0
Interacción A x B	43,765.71	3	14,588.57	2.24	0.094
B x sujetos i rupos	312,106.39	48	6,502.22		
Total	711,453.32	71			

Comparación	Tukey 1%	Duncan 1%	Tukey 5%	Duncan 5%
a2b2 - a2b1	207.112	141.114 *	114.772 *	119.342 *
a2b2 - a1b1	204.445	141.114 *	113.697 *	119.342 *
a2b2 - a2b4	198.334	141.114 *	112.085 *	119.342 *
a2b2 - a1b4	169.112	141.114 *	110.741 *	119.342 *
a2b2 - a1b3	162.000	141.114 *	108.321 *	119.342 *
a2b2 - a2b3	155.334	141.114 *	105.365 *	119.342 *
a2b2 - a1b2	101.334	141.114 *	101.064 *	119.342 *
a1b2 - a2b1	105.778	141.114 *	113.697 *	119.342 *
a1b2 - a1b1	103.111	141.114 *	112.085 *	119.342 *
a1b2 - a2b4	97.000	141.114 *	110.741 *	119.342 *

Las comparaciones se hicieron con 71 grados de libertad

**Tablas I y J.** Diferencias significativas entre la actividad epileptiforme entre los distintos intervalos de tiempo del registro y los grupos nutrimentales. **I-**La tabla a la izquierda es el análisis de varianza del número total de espigas en cada intervalo de tiempo, se encontraron diferencias significativas entre los intervalos de tiempo mas no entre los grupos nutrimentales. **J-** Resultados de las comparaciones múltiples. El grupo MC tiene una mayor cantidad de espigas unitarias en EST que en el resto del registro, sin embargo durante EST el grupo MC no es significativamente mayor que el grupo CO.

Fuentes de Varianz	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre bloques	2,123.94	15	141.60		
Factor A	676.00	1	676.00	6.54	0.0217
Sujetos intra grupos	1,447.94	14	103.42		
Intra sujetos	10,353.00	48			
Factor B	3,988.81	3	1,329.60	11.21	0.0001
Interacción A x B	1,383.13	3	461.04	3.89	0.0152
B x sujetos iupos	1,981.06	42	118.60		
Total	12,476.94	63			

Comparación	Tukey 1%	Duncan 1%	Tukey 5%	Duncan 5%
a2b2 - a1b1 =	34.667	45.007	36.240	37.743
a2b2 - a1b4 =	34.667	45.007	35.906	37.743
a2b2 - a2b4 =	34.556	45.007	35.405	37.743
a2b2 - a2b1 =	34.222	45.007	34.820	37.743
a2b2 - a1b3 =	33.334	45.007	34.236	37.743
a2b2 - a2b3 =	30.778	45.007	33.317	37.743
a2b2 - a1b2 =	24.556	45.007	31.898	37.743

Las comparaciones se hicieron con 48 grados de libertad

**Tablas K y L.** Diferencias significativas entre la cantidad de trenes entre los distintos intervalos de tiempo del registro y los grupos nutrimentales. **K-**La tabla a la izquierda es el análisis de varianza del número total de trenes en cada intervalo de tiempo, se encontraron diferencias significativas entre los intervalos de tiempo mas no entre los grupos nutrimentales. **L-** A pesar de haber encontrado diferencias en el tiempo el análisis de comparaciones múltiplesResultados de las comparaciones múltiples. El grupo MC tiene una mayor cantidad de espigas unitarias en EST que en el resto del registro, sin embargo durante EST el grupo MC no es significativamente mayor que el grupo CO.

Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre bloques	71.25	17	4.19		
Factor A	0.04	1	0.04	0.01	0.9259
Sujetos intra grupos	71.22	16	4.45		
Intra sujetos	349.47	54			
Factor B	179.79	3	59.93	17.5	0.00001
Interacción A x B	5.47	3	1.82	0.53	0.6658
B x sujetos irupos	164.21	48	3.42		
Total	420.72	71			

Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre bloques	5,716.44	17	336.26		
Factor A	578.00	1	578.00	1.8	0.1961
Sujetos intra grupos	5,138.44	16	321.15		
Intra sujetos	22,052.00	54			
Factor B	7,971.44	3	2,657.15	9.97	0.0001
Interacción A x B	1,292.11	3	430.70	1.62	0.1966
B x sujetos irupos	12,788.44	48	266.43		
Total	27,768.44	71			

**Tablas M y N.** **M-**La tabla a la izquierda es el análisis de varianza del promedio de espigas por tren en el tiempo. Sólo se encontraron diferencias significativas entre los intervalos de tiempo. **N-** La tabla de la derecha es el análisis de varianza del total de paroxismos a lo largo del registro. Sólo hubo diferencias significativas entre los intervalos de tiempo.

Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre bloques	631.93	17	37.17		
Factor A	0.15	1	0.15	0.001	0.9507
Sujetos intra pos	631.79	16	39.49		
Intra sujetos	2,177.93	54			
Factor B	582.17	3	194.06	5.91	0.002
Interacción A x B	20	3	6.67	0.2	0.8938
B x sujetos irgrupos	1,575.76	48	32.83		
Total	2,809.87	71			

**Tablas O.** La tabla a la izquierda es el análisis de varianza del promedio de duración por paroxismo en el tiempo. No hubo diferencias significativas.

Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre sujetos	33,629.54	17			
A	2,185.04	1	2,185.04	1.11	0.3081
Sujetos intra pos	31,444.50	16	1,965.28		
Intra sujetos	770,044.08	198			
B	104,842.33	2	52,421.17	37.53	0.00001
AB	10,753.00	2	5,376.50	3.85	0.0309
B x sujetos ir grupos	44,700.50	32	1,396.89		
C	85,321.20	3	28,440.40	13.11	0.00001
AC	14,426.05	3	4,808.68	2.22	0.097
C x sujetos ir grupos	104,113.50	48	2,169.03		
BC	184,349.15	6	30,724.86	15.03	0.00001
ABC	25,304.63	6	4,217.44	2.06	0.0641
BC x sujetos a grupos	196,233.72	96	2,044.10		
Total	803,673.63	215			

VIGILIA		TUKEY 1%	DUNCAN 1%
CONTROL VS MALNUTRIDO CRONICO			
EST (MC)	PRE (MC)		
a2b1c2	a2b1c1	204.559	110.834 91.135
EST (MC)	POST2 (MC)		
a2b1c2	a2b1c4	201.449	110.834 90.269
EST (MC)	PRE (CO)		
a2b1c2	a1b1c1	200.889	110.834 88.97
EST (MC)	POST2 (CO)		
a2b1c2	a1b1c4	190.779	110.834 87.888
EST (MC)	POST1 (CO)		
a1b11c2	a1b1c3	181.449	110.834 85.07
EST (MC)	POST1 (MC)		
a2b1c2	a2b1c3	167.779	110.834 83.558

**Tablas P y Q.** P-La tabla a la izquierda es el análisis de varianza del total de espigas unitarias por grupo nutrimental en cada estado de vigilancia a lo largo del registro. Se encontraron diferencias significativas entre estados de vigilancia y entre los intervalos de tiempo. Q- Las comparaciones múltiples muestran un aumento significativo en espigas unitarias en el grupo MC en el momento EST comparado contra el mismo grupo y contra el grupo CO excepto en el momento EST donde no fueron diferentes significativamente.

Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre sujetos	863.67	17			
A	284.74	1	284.74	7.87	0.0122
Sujetos intra pos	578.93	16	36.18		
Intra sujetos	17,788.17	198			
B	1,680.78	2	840.39	23.77	0.00001
AB	569.48	2	284.74	8.05	0.0018
B x sujetos ir grupos	1,131.41	32	35.36		
C	2,100.39	3	700.13	16.22	0.00001
AC	634.26	3	211.42	4.9	0.005
C x sujetos ir grupos	2,071.52	48	43.16		
BC	4,145.44	6	690.91	16.35	0.00001
ABC	1,398.74	6	233.12	5.52	0.0002
BC x sujetos a grupos	4,056.15	96	42.25		
Total	18,651.83	215			

MS COMPAMUL

Auto

Valor de la media # 15 ? .333  
Nombre del grupo # 15 ? a2b2c1

	Tukey 1%	Duncan 1%
a2b1c2 -a1b2c1 =	34.778	29.671 *
a2b1c2 -a1b2c4 =	34.778	29.671 *
a2b1c2 -a1b3c1 =	34.778	29.671 *
a2b1c2 -a2b1c4 =	34.778	29.671 *
a2b1c2 -a2b3c2 =	34.778	29.671 *
a2b1c2 -a1b1c4 =	34.667	29.671 *
a2b1c2 -a2b2c2 =	34.667	29.671 *
a2b1c2 -a1b1c1 =	34.667	29.671 *
a2b1c2 -a2b2c3 =	34.556	29.671 *
a2b1c2 -a2b2c4 =	34.556	29.671 *
a2b1c2 -a2b3c1 =	34.556	29.671 *
a2b1c2 -a1b3c2 =	34.556	29.671 *
a2b1c2 -a2b2c1 =	34.445	29.671 *
a2b1c2 -a2b1c1 =	34.445	29.671 *
a2b1c2 -a1b2c3 =	34.334	29.671 *
a2b1c2 -a1b2c2 =	34.334	29.671 *
a2b1c2 -a1b1c3 =	34.000	29.671 *
a2b1c2 -a2b1c3 =	31.778	29.671 *
a2b1c2 -a1b1c2 =	25.222	29.671 *

Las comparaciones se hicieron con 96 grados de libertad  
[C]ontinuar

**Tablas R y S.** R-La tabla a la izquierda es el análisis de varianza del total de trenes de espigas por grupo nutrimental en cada estado de vigilancia a lo largo del registro. Se encontraron diferencias significativas entre estados de vigilancia y entre los intervalos de tiempo y entre la interacción de grupo nutrimental, estado de vigilancia y tiempo. S- Las comparaciones múltiples muestran un aumento significativo en espigas unitarias en el grupo MC en el momento EST comparado contra el mismo grupo y contra el grupo CO excepto en el momento EST donde no fueron diferentes significativamente.

Fuentes de Varianza	SC	GL	MC	F	p(F)
Entre sujetos	1,896.93	17			
A	192.67	1	192.67	1.81	0.1951
Sujetos intra pos	1,704.26	16	106.52		
Intra sujetos	29,462.17	198			
B	3,678.68	2	1,839.34	18.88	0
AB	368.53	2	184.26	1.89	0.1657
B x sujetos ir grupos	3,117.46	32	97.42		
C	2,685.43	3	895.14	10.1	0.0001
AC	411.59	3	137.2	1.55	0.2132
C x sujetos ir grupos	4,255.15	48	88.65		
BC	5,377.99	6	896.33	10	0
ABC	959.55	6	159.92	1.78	0.1099
BC x sujetos a grupos	8,607.80	96	89.66		
Total	31,359.09	215			

```

C:\DOCUME~1\fc\ESCRIT~1\leana\TODOTE~1\COMPAMUL.EXE
Tukey 1% Duncan 1%
a2b1c2 -a1b1c1 = 36.999 6.810 * 5.599 *
a2b1c2 -a1b1c4 = 36.110 6.810 * 5.546 *
a2b1c2 -a2b1c1 = 36.110 6.810 * 5.466 *
a2b1c2 -a2b1c4 = 35.554 6.810 * 5.400 *
a2b1c2 -a1b1c3 = 28.780 6.810 * 5.227 *
a2b1c2 -a2b1c3 = 28.560 6.810 * 5.134 *
a2b1c2 -a1b1c2 = 20.670 6.810 * 4.934 *
a1b1c2 -a1b1c1 = 16.329 6.810 * 5.546 *
a1b1c2 -a1b1c4 = 15.440 6.810 * 5.466 *
a1b1c2 -a2b1c1 = 15.440 6.810 * 5.400 *
a1b1c2 -a2b1c4 = 14.884 6.810 * 5.227 *
a1b1c2 -a1b1c3 = 8.110 6.810 * 5.134 *
a1b1c2 -a2b1c3 = 7.890 6.810 * 4.934 *
a2b1c3 -a1b1c1 = 8.439 6.810 * 5.466 *
a2b1c3 -a1b1c4 = 7.550 6.810 * 5.400 *
a2b1c3 -a2b1c1 = 7.550 6.810 * 5.227 *
a2b1c3 -a2b1c4 = 6.994 6.810 * 5.134 *
a1b1c3 -a1b1c1 = 8.219 6.810 * 5.400 *
a1b1c3 -a1b1c4 = 7.330 6.810 * 5.227 *
a1b1c3 -a2b1c1 = 7.330 6.810 * 5.134 *
a1b1c3 -a2b1c4 = 6.774 6.810 4.934 *
Las comparaciones se hicieron con 96 grados de libertad
[C]ontinuar

```

**Tablas T y U.** T-La tabla a la izquierda es el análisis de varianza del total de paroxismos por grupo nutricional en cada estado de vigilancia a lo largo del registro. Se encontraron diferencias significativas entre estados de vigilancia, entre los intervalos de tiempo y entre la interacción de estado de vigilancia y tiempo. U- Las comparaciones múltiples muestran un aumento significativo de paroxismos en el grupo MC en el momento EST durante vigilia. El grupo CO también es mayor que el resto del registro menos que el grupo MC y CO y MC en POST1 es significativamente mayor que PRE y POST2.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- 2003. Perfiles Nutricionales por Países - MÉXICO Agosto FAO, Roma, Italia.
- Aguilar-Roblero R., Salazar-Juárez A., Rojas-Castañeda J., Escobar C., Cintra L. 1997. Organization of circadian rhythmicity and suprachiasmatic nuclei in malnourished rats. *American Journal of Physiology* 273:R1321-R1331
- Alfaro-Rodríguez A., González-Piña R., González-Maciel A., Arch-Tirado E. 2006. Serotonin and 5-hydroxy-indole-acetic acid contents in dorsal raphe and suprachiasmatic nuclei in normal, malnourished and rehabilitated rats under 24 h of sleep deprivation. *Brain Research* 1110:95-101
- Arrieta O., Palencia G., García-Arenas G., Morales-Espinosa D., Hernández-Pedro N., Sotelo J. 2005. Prolonged exposure to lead lowers the Threshold of Pentylentetrazole-induced seizures in rats. *Epilepsia* 46(10):1599-1602
- Ateş N., Akman O., Karson A. 2005. The effects of the immature rat model of febrile seizures on the occurrence of later generalized tonic-clonic and absence epilepsy. *Developmental Brain Research* 154:137– 140
- Austin K.B., Beiswanger C., Bronzino J.D., Austin-Lafrance R.J., Galler J.R., Morgane P.J. 1992. Prenatal protein malnutrition alters behavioral state modulation of inhibition and facilitation in the dentate gyrus. *Brain Research Bulletin* 28:245-255
- Austin-Lafrance RJ, Morgane PJ, Bronzino JD. 1991. Prenatal protein malnutrition and hippocampal function: rapid kindling. *Brain Research Bulletin*. Dec; 27(6):815-8.
- Bayer S., Altman J., Russo R., Zhang X. 1993. Timetables of Neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology* 14(1):83-144
- Becker A., Letzel K., Letzel U., and Grecksch G. 1997. Kindling of the dorsal and the ventral hippocampus, effects on learning performance in rats. *Physiology & Behavior* Vol.62 No.6 pp. 1265-1271
- Benington, J.H., Frank, M.G. 2003. Cellular and molecular connections between sleep and synaptic plasticity. *Progress in Neurobiology* 69:71-801
- Benington, J.H., Heller, H.C. 1994. REM-sleep timing is controlled homeostatically by accumulation of REM-sleep propensity in non-REM sleep. *Am. J. Physiol.* 266; 35: R1992-R-2000
- Bertoli S., Cardinali S., Veggiotti P., Trentani C., Testolin G., Tagliabue A. 2006. Evaluation of nutritional status in children with refractory epilepsy. *Nutrition Journal* 5:14
- Bilbey D.L.J., Salem H., Grossman M.H. 1960. The anatomical basis of the Straub Phenomenon. *British Journal of Pharmacology* 15:540-543
- Bolaris S., Constantinou C., Valcana T., Margarita M. 2005. Pentylentetrazole-induced convulsions affect cellular and molecular parameters of the mechanism of action of triiodothyronine in adult rat brain. *Neuropharmacology* 48:824-902
- Bonatto F., Polydoro M., Andrades M.E., Conte da Frota Júnior M.L., Dal-Pizzol F., Rotta L.N., Onofre Souza D., Perry M.L., Fonseca Moreira J.C. 2005. Effect of protein malnutrition on redox state of the hippocampus of rat. *Brain Research* 1042:17-22
- Brailowsky S. 1999. Epilepsia Enfermedad sagrada del cerebro. La ciencia para todos #170. Fondo de Cultura Económica. 1° edición. D.F. México. 148 pp.
- Brandt C, Ebert U., Löscher W. 2004. Epilepsy induced by extended amygdale-kindling in rats: lack of clear association between development of spontaneous seizures and neuronal damage. *Epilepsy Research* 62:135-156
- Bronzino J.D., Austin-Lafrance R.J., Morgane P.J. 1990. Efectos of prenatal protein malnutrition on perforant path kindling in the rat. *Brain Research* 515(1-2):45-50

- Bronzino J.D., Austin-Lafrance R.J., Siok C.J., Morgane P.J. 1986. Effect of protein malnutrition on hippocampal kindling: electrographic and behavioral measures. *Brain Research* 384:348-354
- Bronzino J.D., Blaise J.H., Mokler D.J., Galler J.R., Morgane P.J. 1999. Modulation of paired-pulse responses in the dentate gyrus: effects of prenatal protein malnutrition. *Brain Research* 849:45-57
- Burneo J.G., Tellez-Zenteno J., Wiebe S. 2005. Understanding the burden of epilepsy in Latin America: A systematic review of its prevalence and incidence. *Epilepsy Research* 66:63-74
- Buzsáki G. 2002. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33(3):325-40.
- Capasso A. 2007. Glucocorticoids involvement in the control of CNS excitability. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*. 2 (2):155-165
- Castañón-Cervantes O., Cintra L. 2002. Circadian rhythms of occipital-cortex temperature and motor activity in young and old rats under chronic protein malnutrition. *Nutritional Neuroscience* 5:279-286
- Chen J., Turiak G., Galler J., Volicer L. 1997. Postnatal changes of brain monoamine levels in prenatally malnourished and control rats. *Int. J. Devl. Neuroscience*. 15(2):257-263
- Cissé Y., Crochet S., Timofeev I., Steriade M. 2004 Synaptic responsiveness of neocortical neurons to callosal volleys during paroxysmal depolarizing shifts. *Neuroscience* 124:231-239
- Cintra, L., Durán, P., Guevara, M.A., Aguilar, A. and Castañón-Cervantes, O. 2002. Pre- and Post-natal protein malnutrition alters the effect of Rapid eye movements sleep-deprivation by platform-technique upon the electrocorticogram of the circadian sleep-wake cycle and its frequency bands in the rat. *Nutritional Neuroscience* 5(2):91-101.
- Cintra L, Galván A, Díaz-Cintra S, Escobar C. 1994. Protein Malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in rats of three ages. *Boletín de estudios medicos y biológicos*. 42(1-4):11-9
- Costa-Cruz R.R., Amancio-dos-Santos A., Guedes R.C. 2006. Characterization of cortical spreading depression in adult well-nourished and malnourished rats submitted to the association of pilocarpine-induced epilepsy plus streptozotocin-induced hyperglycemia. *Neuroscience letters* Jul 3;401(3):271-275
- Datta, S., Patterson, E., Vincitore, M., Tonkiss, J., Morgane, P.J., Galler, J. 2000. Prenatal protein malnourished rats show changes in sleep /wake behavior as adults. *Journal of Sleep Research*. 9:71-79
- De Luca G., Di Giorgio R.M., Macaione S., Calpona P.R., Constantino S., Di Paola E.D., Costa N., Rotiroti D., Ferreri Ibbadu G., Russo E., De Sarro G. 2005. Amino acid levels in some lethargic Mouse brain areas before and alter pentylene tetrazole kindling. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 81:47-53
- Deboer, T., Vansteensel, M.J., Détari, L., Meijer, J. 2003. Sleep states alter activity of suprachiasmatic nucleus neurons. *Nature Neuroscience* 6; 10:1086-1090
- Derchansky M., Shahar E., Wenneber R.A., Samoilova M., Jahromi S.S., Abdelmalik P.A., Zhang L., Carlen P.L. 2004. Model of Frequent, recurrent, and spontaneous seizures in the intact Mouse hippocampus. *Hippocampus* 14:935-947
- Dinner D.S; Lüder H.O. Ed. 2001. Epilepsy and Sleep. Physiological and clinical relationships. Academic Press. EUA. 300 pp.
- Durán Hernández P. 2000. Correlación de la actividad hipocámpica y del ECoG en ratas malnutridas. El autor. México. 138 pp.
- Durán. P. y Cintra, L. 2002. El Ciclo de Sueño y Vigilia. En: Marisela Hernández (Ed.) Motivación humana. El Manual Moderno.
- Durán, P., Galván, A., Granados, L., Aguilar-Roblero, R., and Cintra, L. 1999. Effects of protein malnutrition on the vigilance states and their circadian rhythms in 30-day-old rats submitted total sleep-deprivation. *Nutritional Neuroscience*, 2:127-138.



- Durán, P. y Cintra L. 2004. Relaciones funcionales hipocampo-corteza prefrontal en la rata malnutrida En: MA Guevara, M Hernández y P. Durán (Eds.) Algunas aproximaciones al estudio de la corteza prefrontal en México. UDG.
- Durán P., L. Cintra, J.R. Galler and J. Tonkiss. 2005. Prenatal protein malnutrition induces a phase shift advance of the spontaneous locomotor rhythm and alters the rest/activity ratio in adult rats. *Nutritional Neuroscience*. Jun;8(3):167-72
- Fortman JK 2nd, Reichling T, German RZ. 2005. The impact of maternal protein malnutrition on pre-weaning skeletal and visceral organ growth in neonatal offspring of *Rattus norvegicus*. *Growth Dev Aging. Summer* 69(1):39-52
- Foster, R.G., Wulff, K. 2005. The rhythm of rest and excess. *Neuroscience* 6:407-414
- Frank, M.G., Heller, H.C., 1997 .Development of diurnal organization of EEG slow-wave activity and slow-wave sleep in the rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 273:472-478.
- Frank, M.G., Heller, H.C. 2003. The ontogeny of mammalian sleep: a reappraisal of alternative hypotheses. *Journal of Sleep Research*. 12:25-34
- Frank, M.G., Heller, H.C.1997. Development of REM and slow wave sleep in the rat. *Am.J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 41:1792-1799
- Fukuda M.T., Françolin-Silva A.L, Hernández A.S., Valadares C.T., Almeida S.S. 2007. Effects of early protein malnutrition and scopolamine on learning and memory in the Morris water maze. *Nutritional Neuroscience* 10 (5-6):251-259
- Galanopoulou A.S., Moshé S.L, 2002. Desnutrição e epilepsia. *Jornal de Pediatria* Jan-Feb;78(1):7-8
- Garcia-Cairasco N., Rossetti F., Oliveira J.A.C., Furtado M.A. 2004. Neuroethological study of status epilepticus induced by systemic pilocarpine in Wistar audiogenic rats (WAR strain)\*1. *Epilepsy & Behavior* 5 (4):455-463
- Gasiór, M., Ungard, J.T., Beekman, M.,Carter, R.B., Witkin, J.M. 2000. Acute and chronic effects of the synthetic neuroactive steroid ganaxolone against the convulsive and lethal effects of pentylentetrazol in seizure kindled mice: comparison with diazepam and valproate. *Neuropharmacology* 39:1184-1196.
- Gerashchenko, D., Shiromani, P.J. 2004. Different neuronal phenotypes in the lateral hypothalamus and their role in sleep and wakefulness. *Molecular Neurobiology* 29:41-59
- González-Hernández I., Jung-Cook H., Sotelo A. 2008. Effect of malnutrition on the pharmacokinetics of cefuroxime axetil in young rats. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences* 11 (1):9-21
- Granados-Rojas L, Larriva-Sahd J, Cintra L, Gutiérrez-Ospina G, Rondán A, Díaz-Cintra S. 2002. Prenatal protein malnutrition decreases mossy fibers- CA3 thorny excrescences asymmetrical synapses in adult rats.*Brain Research* Apr 19;933(2):164-71.
- Hackett R., Iype T. 2001. Malnutrition and childhood epilepsy in developing countries. *Seizure* 10(8):554-558
- Hallböök T., Lundgren J., Rosèn I. 2007. Ketogenic Diet improves sleep quality in children with therapy-resistant epilepsy. *Epilepsia* 48(1):59-65
- Hannesson D. K, A. E. Wallaceb, M. Pollockb, S. Corleyb, P. Mohapelb and M. E. Corcoran 2004. The relation between extent of dorsal hippocampal kindling and delayed-match-to-place performance in the Morris water maze. *Epilepsy Research*. Feb;58(2-3):145-54.
- Hannesson, D.K, Corcoran, M.E. 2000. The mnemonic effects of kindling. *Neuroscience and Behavioral Reviews* 24:725-751
- Jin, C. Sakurai, E., Kiso, Y., Luo, J., Yanai, K. Chen, Z. 2005. Influence of low dietary histamine on the seizure development of chemical kindling induced by pentylentetrazol in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 26; 4:423-427

- Kandel, E., Schwartz, J., Jessell, T. 2001. Principios de Neurociencia. 4ª edición. McGraw-Hill/ Interamericana de España. España.
- Khatami R, Landolt H.P., Achermann P, Adam M, Rétey J.V., Werth E., Schmid D., Bassetti C.L. 2008. Challenging sleep homeostasis in narcolepsy-cataplexy: implications for non-REM and REM sleep regulation. *Sleep* 31(6):859-867
- Krajnak, K., Rosewell, K.L., Duncan, M. J., Wise, P.K. 2003. Aging, estradiol and time of day differentially affect serotonin transporter binding in the central nervous system of female rats. *Brain Research* 990:87-94
- Lado F.A., Moshé S.L. 2008 How do seizures stop? *Epilepsia* 49 (10):1651-1664
- Larkin JE, Yellon SM, Zucker I. 2003. Melatonin production accompanies arousal from daily torpor in Siberian hamsters. *Physiol Biochem Zool.* Jul-Aug;76(4):577-85.
- Lister J.P, Blatt G.J., DeBassio W.A., Kemper T.L., Tonkiss J., Galler J.R., Rosene D.L. 2005. Effect of prenatal protein malnutrition on numbers of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. *Hippocampus* 15:393-403
- Llinás R.R., Steriade M. 2006. Bursting of thalamic neurons and states of vigilance. *Journal of Neurophysiology* 95:3297-3308
- Manjarrez-Marmolejo J. 2003. El núcleo reticularis pontis caudalis como sitio de acción de fármacos anticonvulsivantes en un modelo de crisis generalizadas producidas por pentilentetrazol en la rata. El autor. México. 61 pp.
- Manjarrez-Marmolejo J. 1997. Efecto de las microinyecciones de AP-7 y MK-801 en la formación reticular pontina de la rata, sobre las crisis epilépticas provocadas por pentilentetrazol. El autor. México. 56 pp.
- Marcus E.M., Jacobson S. 2007. Historical perspective on PTZ-induced seizures. *Epilepsia* 48(4):845-846
- Marks G.A., Shaffery J.P., Oksenberg A., Speciale S.G., Roffwarg H.P. 1995. A functional role for REM sleep in brain maturation. *Behavioural Brain Research.* 69(1-2):1-11.
- McCormick D., Bal T. 1997. Sleep and arousal: Thalamocortical mechanisms. *Annual Reviews of Neuroscience* 20:185-215
- McKenna J.T., Tartar J.L., Ward C.P., Thakkar M.M., Cordeira J.W., McCarley R.W., Strecker R.E. 2007. Sleep fragmentation elevates behavioral, electrographic and neurochemical measures of sleepiness. *Neuroscience* 146(4):1462-1473
- Mistlberger R.E., Bergmann B.M., Rechtschaffen A. 1987. Relationships among wake episode lengths, contiguous sleep episode lengths, and electroencephalographic delta waves in rats with suprachiasmatic nuclei lesions. *Sleep.* 10(1):12-24
- Montgomery S.M., Sirota A., Buzsáki G. 2008. Theta and gamma coordination of hippocampal networks during waking and rapid eye movement sleep. *Journal of Neuroscience.* Jun 25;28(26):6731-41
- Morgane P.J., Austin-LaFrance R., Bronzino J., Tonkiss J., Díaz-Cintra S., Cintra L., Kemper T., Galler J.R. 1993. Prenatal Malnutrition and Development of the Brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 17:91-128
- Morimoto K, Fahnstock M, Racine R. 2004. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Progress in Neurobiology* 73:1-60
- Moskal J.R., Kroes R.A., Otto N.J., Rahimi O., Claiborne B.J. 2006. Distinct patterns of gene expression in the left and right hippocampal formation of developing rats. *Hippocampus* 16:629-634
- Müller O, Krawinkel M. 2005. Malnutrition and health in developing countries. *Canadian Medical Association Journal.* Aug 2;173(3):279-86.

- Nehlig A., Rudolf G., Leroy C., Rigoulot M.A., Simpson I.A., Vannucci S.J. Pentylentetrazol-induced status epilepticus up-regulates the expression of glucose transporter mRNAs but not proteins in the immature rat brain. *Brain Research* 1082:32-42
- Nita D.A., Cissé Y., Timofeev I., Steriade M. 2007. Waking-sleep modulation of paroxysmal activities induced by partial cortical deafferentation. *Cerebral Cortex* Feb;17(2):272-83
- Norden A., Blumenfeld H. 2002. The role of subcortical structures in human epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 3:219-231
- Pal D.K., Carpio A., Sander W. 2000. Neurocysticercosis and epilepsy in developing countries. *J. Neurol. Neurosurg Psychiatry* 68:137-143.
- Palencia G., Calvillo M., Sotelo J. 1996. Chronic malnutrition caused by a corn-based diet lowers the threshold for pentylentetrazol-induced seizures in rats. *Epilepsia* 37(6):583-586.
- Paxinos G., Watson C. 1986. The rat brain in stereotaxic coordinates. Second edition. Academic Press.
- Pinto A.V., Guedes R.C. 2008. Direct evidence of inter-hemispheric modulation by callosal fibers: a cortical spreading depression study in well-nourished and early-malnourished adult rats. *Experimental Brain Research* 186(1):39-46
- Purves D., Augustine G.J., Fitzpatrick D., Hall W.C., LaMantia A., McNamara J.O., Williams S.M. Editors. 2004. Neuroscience. Third Edition. Sinauer Associates Inc. USA. 680 pp.
- Quigg, M. 2000. Circadian rhythms: interactions with seizures and epilepsy *Epilepsy Research*, Vol.42, Nov. 1:43-55
- Quigg, M., Straume, M., Smith, T., Menaker, M. and Bertram, E.H. 2001. Seizures induce phase shifts of rat circadian rhythms. *Brain Research*, Vol. 913 Sept.21, 2:165-169
- Racine, 1972. R.J. Racine, Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalograph Clinical Neurophysiology* 32:281–294.
- Racine R.J., Steingart M., Bureau Y., McIntyre D.C. 2003. Differential sensitivity of genetically Fast vs. Slow kindling rats strains to GABAergic convulsive agents. *Neuropharmacology* 45:918–924
- Rauca, C., Wiswedel, I. Zerbe, R. Keilhoff, G., Krug, M. 2004. The role of superoxide dismutase and  $\alpha$ -tocopherol in the development of seizures and kindling induced by pentylentetrazol-influence of the radical scavenger  $\alpha$ -phenyl-N-ter-butyl nitron. *Brain Research* 1009:203-212.
- Reichling TD, German RZ. 2000. Bones, muscles and visceral organs of protein-malnourished rats (*Rattus norvegicus*) grow more slowly but for longer durations to reach normal final size. *The Journal of Nutrition* Sep;130(9):2326-32
- Rocha L., Briones M., Ackermann R.F., Antón B., Maidment N.T., Evans C.J., Engel J. 1996. Pentylentetrazol-induced kindling:early involvement of excitatory and inhibitory systems. *Epilepsy Research* 26:105-113
- Sarkisian M.R. 2001. Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. *Epilepsy and Behavior* 2:201-216
- Sayyah, M., Yousefi-Pour, M., Narenjkar, J. 2005. Antiepileptogenic effect of  $\beta$ -carotene and vitamin A in pentylentetrazole-kindling model of epilepsy in mice. *Epilepsy Research* 63:11-16
- Schilling M, Wetzel W., Grecksch G., Becker A. 2006. Pentylentetrazole kindling affects sleep in rats. *Epilepsia* 47(12):2075-2082
- Schweigert I.D., de Oliveira D.L., Scheibel F., da Costa F, Wofchuk S.T., Souza D.O., Perry M. 2005. Gestational and postnatal malnutrition affects sensitivity of young rats to picrotoxin and quinolinic acid and uptake of GABA by cortical and hippocampal slices. *Developmental Brain Research* 154:177-185

- Scott R.A., Lhatoo S.D., Sander J.W.A.S. 2001. The treatment of epilepsy in developing countries: where do we go from here? *Bulletin of the World Health Organization* 79(4):344-351
- Shea J.L., Mochizuki T., Sagvaag V., Aspevik T., Bjorkum A.A., Datta S. 2008. Rapid eye movement (REM) sleep homeostatic regulatory processes in the rat: changes in the sleep-wake stages and electroencephalographic power spectra. *Brain Research*. 1213:48-56
- Shultz PL, Tonkiss J, Morgane PJ, Bronzino JD, Galler JR. 1995. Effects of an every other day rapid kindling procedure in prenatally protein malnourished rats. *Brain Research* Jun 5;682(1-2):35-40.
- Siegel G.J. Agranoff B.W., Albers R.W., Fisher S.K., Uhler M.D. Editors. 1999. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and medical aspects. 6<sup>th</sup> edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia EUA. 1183pp.
- Sinha R.K. 2008. EEG power spectrum and neural network based sleep-hypnogram analysis for a model of heat stress. *Journal of clinical monitoring and computing*. 22(4):261-268
- Steiger J.L, Alexander M.J., Galler J.R., Farb D.H., Russek S.J. 2003. Effects of prenatal malnutrition on GABA<sub>A</sub> receptor alpha1, alpha3 and beta2 mRNA levels. *Neuroreport* 14(13):1731-1735
- Steriade M. 1999. Brainstem activation of thalamocortical systems. *Brain Research Bulletin*. Nov 15-Dec;50(5-6):391-2
- Steriade M., Amzica F., Timofeev I. 2003. Bases cellulaires des transitions de l'état de sommeil aux paroxysms épileptiformes. *Medecine/Sciences* 19:999-1002
- Szyndler J., Piechal A., Blecharz-Klin K., Skórzewska A., Maciejak P., Walkowiak J., Turzyńska D., Bidziński A., Płaźnik A., Widy-Tyszkiewicz E. 2006. Effect of kindled seizures on rat behavior in water Morris maze test and amino acid concentrations in brain structures. *Pharmacological Reports* 58:75-82
- Szyndler j., Rok P., Maciejak P., Walkowiak J., Członkowska A.I., Sienkiewicz-Jarosz H., Wisłowska A., Zienowicz M., Lehner M., Bidziński A., Kostowski W., Plaznik A. 2002. Effects of pentylentetrazol-induced kindling of seizures on rat emotional behavior and brain monoaminergic systems. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 73:851-861
- Taber KH, Fuller GN, Stanley JC, DeFrance JF, Wiggins RC. 1980. The effect of postnatal undernourishment on epileptiform kindling of dorsal hippocampus. *Experientia* Jan 15 36:69-70
- Tang X., Yang L., Sanford L.D. 2007. Sleep and EEG spectra in rats recorded via telemetry during surgical recovery. *Sleep* 30(8):1057-1061
- Timofeev I, Grenier F., Steriade M. 2004. Contribution of intrinsic neuronal factors in the generation of cortically driven electrographic seizures. *Journal of Neurophysiology* 92:1133-1143
- Tirassa, P., Costa, N., Aloe, L. 2005. CCK-8 prevents the development of kindling and regulates the GABA and NPY expression in the hippocampus of penylenetetrazole (PTZ)-treated adult rats. *Neuropharmacology* 48:732-742
- Tonkiss, J., Trzcinska, M., Galler, J., Ruiz-Opazo, N., Herrera, V.L.M. 1998. Prenatal malnutrition-induced changes in blood pressure. Dissociation of stress and nonstress responses using radiotelemetry. *Hypertension*. 32:108-114.
- Vataev S.I. 2006. The effects of repeated audiogenic convulsions on the organization of sleep in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 36(7):729-735
- Vyazovskiy V.V, Achermann P., Tobler I. 2007. Sleep homeostasis in the rat in the light and dark period. *Brain Research Bulletin*. 74:37-44.
- Vyazovskiy V.V., Borbély A.A., Tobler I. 2002. Interhemispheric sleep EEG asymmetry in the rat is enhanced by sleep deprivation. *Journal of Neurophysiology* 88:2280-2286

- Vyazovskiy V.V., Cirelli C., Pfister-Genskow M., Faraguna U., Tononi G. 2008. Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nature Neuroscience*. 11(2):200-208.
- Yi P.L., Tsai C.H., Lin J.G., Lee C.C., Chang F.C. 2004. Kindling stimuli delivered at different times in the sleep-wake cycle. *Sleep* 27(2):203-212
- Zamboni, G., Amici, R., Perez, E., Jones, C.A., Parmeggiani, P.L. 2001. Pattern of REM sep occurrence in continuous darkness following the exposure to low ambient temperature in the rat. *Behavioural Brain Research* 122:25-32.
- Zepelin H., Siegel J.M., Tobler I. 2000. Mammalian Sleep en: Principles and practice of sleep 2<sup>nd</sup> ed. pp 91-100. Saunders. EUA