



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

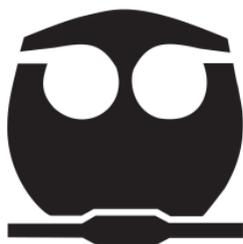
**ANÁLISIS QUÍMICO DE LA LIBERACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN UN
MODELO MURINO DE EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

PRESENTA

EDNA LIZANDRA ROMERO BUSTOS



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: PATRICIA SEVERIANO PEREZ

VOCAL: GUILLERMO CELESTINO CARDOSO SALDAÑA

SECRETARIO: ROSALINDA GUEVARA GUZMAN

1er. SUPLENTE: VANESSA REBECA MAYA AMPUDIA

2° SUPLENTE: RUTH BUSTAMANTE GARCÍA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, FACULTAD DE MEDICINA, EDIFICIO A,
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA, LABORATORIO 414.**

ASESOR DEL TEMA:

Dra. ROSALINDA GUEVARA GUZMAN

SUSTENTANTE:

EDNA LIZANDRA ROMERO BUSTOS

DEDICATORIA

A Dios por brindarme las cosas buenas de la vida, y una de ellas es mi familia.

A mi mamá Eloisa Bustos Hernández por tú apoyo, tiempo, fuerzas y dedicación, que me has dado a mis años y a lo largo de mis estudios para seguir adelante y ser mejor persona y profesionalista cada día.

A mi papá Antonio Romero Solano por todos tus esfuerzos y por darme la oportunidad de seguir estudiando.

A mi hermana Elizabeth Romero Bustos, y a mis hermanos Brandon Isaac Romero Bustos, Hugo Alberto Romero Bustos y Antonio Romero Bustos por darme su apoyo, su carácter, por sus palabras y conocimientos para llegar a donde estoy.

A mis sobrinas Haru y Maya por darme la alegría que sólo los bebés saben dar en los momentos justos.

A mis abuelos y abuelas por sus sabias palabras y porque siempre los tengo presentes.

A TODOS

MUCHAS GRACIAS!!!!

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rosalinda Guevara Guzmán por darme la oportunidad de realizar mi servicio social y tesis en el laboratorio del departamento de fisiología que tiene a su cargo, y por brindarme su apoyo y tiempo para finalizar este trabajo.

A cada uno de los miembros del jurado:

Dra. Patricia Severiano Pérez, Dr. Guillermo Celestino Cardoso Saldaña, Dra. Rosalinda Guevara Guzmán, Dra. Vanessa Rebeca Maya Ampudia y a la Profra. Ruth Bustamante García por su tiempo invertido en la revisión del presente trabajo, y por sus aportaciones para mejorarlo.

A la Q. Adriana Mayoral Mariles y a la Q.A. María Elena Jiménez Hernández por su apoyo e información para el desarrollo del presente trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por haberme aceptado, y dejarme ser parte de la máxima casa de estudios.

A CADA UNO DE USTEDES

¡MUCHAS GRACIAS!

ÍNDICE

RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	9
1. NEURONA	10
1.1. Sinapsis	13
1.2. Transmisión sináptica	14
1.3. Barreras de permeabilidad cerebral	16
2. NEUROTRANSMISORES	17
2.1. Aminoácidos	20
2.2. Estructura química y clasificación de los aminoácidos	21
2.3. Actividad e importancia biológica de los aminoácidos	24
2.4. Aminoácidos como neurotransmisores	25
2.5. Efecto de los aminoácidos en el sistema nervioso central	28
3. HISTORIA DE LA EPILEPSIA	30
4. GENERALIDADES Y CLASIFICACIÓN DE LA EPILEPSIA	32
4.1. Epilepsia del lóbulo temporal	36
4.2. La epilepsia del lóbulo temporal a nivel mundial	39
4.3. La epilepsia en México y tratamiento médico	41
4.4. La epilepsia y el trastorno del sentido del olfato	45
4.5. Modelos experimentales de epilepsia	47

5. HIPÓTESIS	50
6. OBJETIVO GENERAL	51
7. OBJETIVO PARTICULAR	51
8. JUSTIFICACIÓN	51
9. METODOLOGÍA	52
9.1. Tratamiento de las muestras (bulbo olfatorio, hipocampo y plasma).....	55
9.2. Condiciones del sistema HPLC	56
10. RESULTADOS	57
10.1. Resultados en bulbo olfatorio, hipocampo y plasma	59
10.2. Gráficas de la concentración de aminoácidos en bulbo olfatorio, hipocampo y plasma.....	63
11. DISCUSIÓN	72
12. CONCLUSIONES	75
13. BIBLIOGRAFÍA	76
14. APÉNDICE	80

RESUMEN

Existen estudios sobre la disfunción olfatoria en personas con epilepsia (Toulouse y Vaschide 1899, Toulouse, Santorelli y Marota 1964, Eskenazi 1986) en la cual el sujeto presenta la incapacidad de identificar olores característicos, como por ejemplo el alcanfor o la vainilla. (Quintal, 2011).

Se ha demostrado que en el hipocampo durante el *status epiléptico* (SE) las concentraciones de los neurotransmisores clásicos se ven afectados, presentándose un aumento de los neurotransmisores excitatorios, principalmente del glutamato; así como también una disminución de los neurotransmisores inhibitorios como el ácido γ -aminobutírico (GABA) y glicina. Por lo tanto los cambios en las concentraciones de estos aminoácidos en hipocampo (HIP) también podrían ser observados en bulbo olfatorio (BO), debido a que se presentan deficiencias olfatorias en personas con epilepsia.

La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) es el tipo epilepsia sintomática que se presenta con mayor frecuencia a nivel mundial, y afecta principalmente la región del HIP en el sistema nervioso central (SNC). Durante el SE se presentan episodios convulsivos, así como crisis visuales, gustativas y olfatorias. Por lo tanto la importancia de tener conocimiento del origen epiléptico es poder generar un diagnóstico preventivo de este padecimiento, aunque actualmente esto no es posible.

El presente proyecto, tiene como objetivo principal evaluar el perfil de liberación de los aminoácidos en hipocampo, bulbo olfatorio y plasma después del *status epiléptico* inducido con pilocarpina en un modelo murino, así como también comparar los cambios en la concentración de los aminoácidos excitatorios e inhibitorios que se presentan en bulbo olfatorio e hipocampo. La metodología utilizada fue un modelo murino, en ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre 220-280 g agrupadas de cuatro a cinco ratas por caja, bajo condiciones ambientales controladas, con agua y comida *ad libitum*.

Se sometieron a un periodo de adaptación de una semana en la cual se les administró a los grupos de estudio 0.3 ml de una solución salina vía intraperitoneal (i.p). Después de 24 horas al periodo de adaptación, y 24 horas antes a la administración de pilocarpina, se administraron 3 mEq/ml de solución de cloruro de litio para potenciar el efecto de la pilocarpina en dosis bajas (30mg/Kg). Una vez obtenidas las muestras de BO, HIP y plasma se realizaba el tratamiento correspondiente y se guardaban a -70°C, conservando así sus propiedades fisiológicas de cada tejido para su análisis posterior.

El equipo que se utilizó para la cuantificación de los aminoácidos fue un Cromatógrafo de Líquidos de Alta Eficiencia (HPLC) de la marca Agilent. El método de referencia fue el “Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Aminoacid, Aminoacid Analysis Using Zorbax Eclipse-AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC”. En este equipo se establecieron las condiciones de separación y análisis de los aminoácidos vía derivatización pre columna en proteínas e hidrolizados proteicos (Arciniega, 2009).

Los resultados obtenidos mostraron cambios en la concentración (nM/mg de Tejido) de los 18 aminoácidos evaluados en HIP y en BO en comparación con el grupo control de cada muestra y dentro de los grupos experimentales con SE de 1 hora, 2 horas y 4 horas.

En plasma, las concentraciones (μM) de los aminoácidos como glutamato, aspartato y glicina, no presentaron el mismo comportamiento que en HIP y BO. Los resultados de la concentración de GABA en plasma no fueron estadísticamente significativos debido a que las áreas obtenidas de GABA no se encontraban dentro del límite de cuantificación de la curva de calibración para éste aminoácido, sin embargo se reporta la concentración que se obtuvo en el grupo control y en los grupos experimentales en una de las muestras, en el caso del grupo 1 (1 hora de SE) la concentración de GABA no pudo ser determinado. Teóricamente se conoce que GABA es un aminoácido identificado como componente único del encéfalo sin embargo también actúa como mediador de la inhibición presináptica dentro de la médula espinal.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la epilepsia se considera un problema de salud pública por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) y la Oficina Internacional para la Epilepsia debido a que afecta la calidad de vida de las personas que la padecen, y no se cuenta con un diagnóstico preventivo de la enfermedad. En México se calcula que existen cerca de 10 a 20 millones de personas con epilepsia.

A pesar de los avances en cuanto a la fisiopatología, diagnóstico y tratamiento, no se puede considerar una enfermedad localizada, sino como un síndrome en donde las condiciones neurológicas son críticas y se caracteriza por la presencia de crisis epilépticas recurrentes no inducidas, que no se presentan de forma aislada y se originan por una actividad anormal excesiva de las neuronas (SSA, 1999). El origen de este padecimiento se puede deber a factores genéticos, ambientales, bioquímicos y fisiopatológicos.

El principal factor epileptogénico es debido a las alteraciones en la transmisión química en los receptores, en los canales iónicos y a la actividad de los neurotransmisores. Existen neurotransmisores con estructura de aminoácidos neutros, entre los que se encuentran el GABA, la glicina y la taurina, y con estructura de aminoácidos ácidos, como el ácido glutámico, el ácido aspártico y otras sustancias relacionadas a ellos (Avedaño, 2001). La actividad de estos aminoácidos son frecuentemente investigados en enfermedades neurodegenerativas, actividad cerebrovasculares, isquemia cerebral, epilepsia, y síndromes psiquiátricos, tal como la esquizofrenia y la depresión.

La generación de una crisis epiléptica conlleva múltiples factores a nivel de la membrana neuronal, la principal causa es debido a las alteraciones en la concentración de los neurotransmisores, principalmente del ácido glutámico o glutamato y de GABA (Perry and Hansen, 1981; Bradford, 1995; Pena and Tapia, 2000). Su estudio en modelos murino como el modelo de pilocarpina en ratas puede facilitar el entendimiento de dicho padecimiento.

1. NEURONA

Las células que constituyen el tejido nervioso son de tres tipos fundamentales: neuronas, células de la neuroglia y células de la microglia (células de sostén). Éstas últimas se denominan genéricamente células gliales, que participan de manera importante en los mecanismos que regulan la excitabilidad neuronal (las células microgliales son las responsables de la defensa del sistema nervioso central), por lo que intervienen de alguna forma en la regulación de la excitabilidad cerebral y puede contribuir al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (Velasco, 1986).

La neurona es la unidad anatómica de origen y funcional del sistema nervioso; es una célula altamente especializada para la generación, recepción, conducción y transmisión de impulsos nerviosos. Se clasifican de acuerdo a su función (sensitiva, motora o interneuronal), localización, o por el tipo de identidad del neurotransmisor que sintetizan y descargan (Goodman, 1975).

Las células nerviosas tienen dos propiedades especiales que las distinguen de las demás células del cuerpo. Primero, pueden conducir señales bioeléctricas a través de grandes distancias sin pérdida alguna en la magnitud de la señal. Segundo poseen conexiones intercelulares (sinapsis) específicas con otras células nerviosas y con tejidos inervados como músculos y glándulas (Cooper, 1982).

La actividad neuronal se codifica en general mediante secuencias de potenciales de acción que se propagan a lo largo de los axones en los circuitos neuronales. La información codificada se transmite de una neurona a otra mediante transmisión sináptica. En esta transmisión, los potenciales de acción que llegan a una terminación presináptica suelen estimular la liberación de un neurotransmisor químico. Este neurotransmisor puede entonces excitar a la célula postsináptica (descargando uno o más potenciales de acción) o inhibir su actividad o condicionar la acción de otras terminaciones axonales. Las terminaciones excitadoras suelen terminar más distalmente en las dendritas que las inhibitorias, que con frecuencia terminan en el soma.

Los estudios clásicos de Ramón y Cajal con tinciones de impregnación argéntica demostraron que las neuronas son heterogéneas con respecto a su tamaño y forma. Un esquema fundamental clasifica a las neuronas por el número de procesos citoplásmicos que poseen. El caso más simple, el pericarion tiene únicamente un proceso llamado axón, como son las fibras sensoriales que conforman las raíces en los ganglios sensitivos (Velasco, 1986). En éste caso el axón conduce la señal que fue generada por el receptor sensitivo en la piel o por modulación sensorial (audición, visión, olfato, gusto) con dirección central a través de las raíces dorsales hacia la médula espinal o hacia la corteza cerebral encefálica.

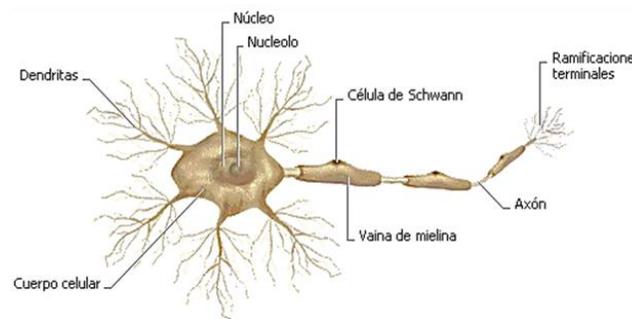


FIGURA 1. Esquema de una neurona, con sus componentes estructurales principales.

Estructuralmente, las neuronas están constituidas por un soma que contiene un núcleo y el nucléolo de la célula (posee un aparato de biosíntesis para fabricar los elementos de la membrana, enzimas sintéticas entre otras sustancias químicas necesarias), y dos tipos de prolongaciones: las dendritas y el cilindroeje o axón (Lozano, 2005). El tamaño es variable, desde células pequeñas de 5 a 7 μm de diámetro (corteza cerebelosa), hasta células que miden de 100 a 130 μm de diámetro (células de Purkinje en el cerebelo, células piramidales y motoneuronas).

Las dendritas son prolongaciones con un patrón de arborización que varía en las diferentes regiones del sistema nervioso. Éstas salen del soma que al ramificarse generalmente por dicotomización, se adelgazan con rapidez y poseen formaciones digitiformes cortas llamadas espinas dendríticas (Velasco, 1986).

El axón es una prolongación de la célula que se encarga de transmitir los impulsos generados en la célula hacia la neurona siguiente, cada neurona posee un único axón y el diámetro de éste es uniforme. El axón se origina en el soma en una zona especializada denominada botón axonal, o de algún tronco dendrítico primario. Puede estar rodeado por una vaina de mielina formada por células del sistema nervioso central (oligodendroglía), o por células de Schwann en el sistema nerviosos periférico (neuroglia).

La mielina aumenta la velocidad de conducción de los potenciales de acción, limitando en parte el flujo de la corriente iónica a las pequeñas porciones amielínicas del axón entre las células adyacentes que lo rodean, los nódulos de Ranvier, transmitiendo información en los circuitos neuronales al igual que la transmisión de sustancias químicas desde o hacia las terminaciones sinápticas (Velasco, 1986).

Las células no neuronales del sistema nervioso (células de sostén) no participan de forma directa en la comunicación a corto plazo de información a través del sistema nervioso, pero ayuda a realizar esta función; como captar moléculas de neurotransmisores o condicionando de forma directa la actividad sináptica.

Con base en su actividad metabólica, tanto los astrocitos (células de apoyo metabólico), como las células de oligodendroglía (células productoras de mielina), son de primordial importancia en la regulación de la excitabilidad neuronal, que fundamentalmente depende de las condiciones de su composición y concentración de iones de ambos lados de la membrana neuronal.

También se ha demostrado que los astrocitos desempeñan un papel importante en la captura, recambio y metabolismo de algunos neurotransmisores, como el ácido glutámico y GABA.

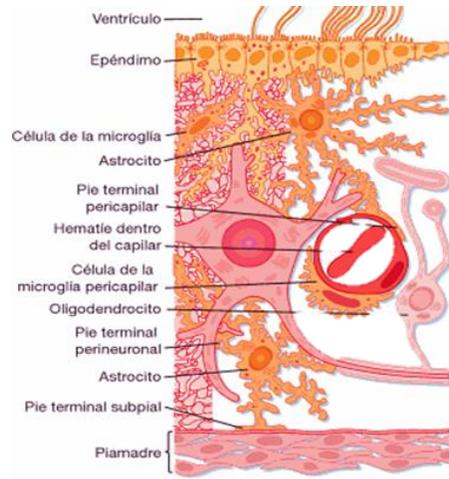


FIGURA 2. Representación esquemática de los elementos no neuronales del SNC. Un oligodendrocito aporta la vaina de mielina para los axones. (Williams et al., 1975).

1.1. SINAPSIS

La comunicación interneuronal se lleva a cabo en zonas especializadas, denominadas sinapsis, las cuales se encuentran en las terminaciones nerviosas, y se pueden clasificar por tres criterios (Velasco, 1986):

- I. Con base en los elementos neuronales que entran en contacto (axosomáticas, axodendríticas, dendrosomáticas, dendrodendríticas, axoaxónicas).
- II. Con base en el mecanismo de transmisión del impulso nervioso, las sinapsis pueden ser de tipo eléctrico o químico.
- III. Según el efecto que el impulso nervioso produzca sobre la membrana postsináptica (Excitatoria o Inhibitoria).

Dependiendo del tipo de unión utilizada, la forma y sus propiedades, pueden relacionarse con su contenido de neurotransmisor, casi todos los tipos neuroquímicos de terminaciones nerviosas, excepto aquellos que liberan acetilcolina y péptidos, pueden acumular activamente el transmisor que liberan, así la célula nerviosa que da lugar al axón se denomina neurona presináptica y la célula diana se conoce como célula postsináptica.

La célula diana puede ser otra neurona, una célula muscular o una célula glandular (Lozano, 2005). Se piensa que estos sitios especializados son las zonas activas para la descarga del transmisor y la reacción a éste. Esta zona de contacto especializada está compuesta por material proteico que rodea las porciones intracelulares de las membranas pre y postsinápticas, las proteínas paramembranas constituyen una zona de adherencia denominada sinaptolema (Bodian, 1972).

Las sinapsis centrales se distinguen además por acumulaciones de microvesículas llamadas vesículas sinápticas, que desempeñan funciones específicas de almacenamiento de los transmisores, el acoplamiento vesicular sobre la membrana presináptica, la secreción dependiente de voltaje y de Ca^{2+} , y el ciclo repetitivo y realmacenamiento del transmisor descargado (Augustine et al., 1999).

1.2. TRANSMISIÓN SINÁPTICA

La transmisión sináptica constituye la función primaria del axón en transmitir información codificada en forma de impulsos eléctricos de membrana, es decir por medio de un potencial de acción o impulso nervioso. Un potencial de acción se puede definir como el cambio de potencial en la membrana debido a un estímulo eléctrico que se generan debido a mecanismos de flujo iónico (permeabilidad de membrana por iones de sodio, canales dependientes de voltaje). En unos milisegundos el potencial se invierte de negativo a positivo y regresa al potencial de reposo.

Un estímulo umbral genera un potencial de acción, que sigue la ley del todo o nada en un axón, despolarizando la membrana por encima del nivel del umbral, por tanto el umbral es el voltaje necesario para generar un potencial de acción. El potencial de acción se propaga sin atenuarse hasta llegar a la terminación nerviosa donde se libera el transmisor que activa a la célula postsináptica (Cooper, 1982).

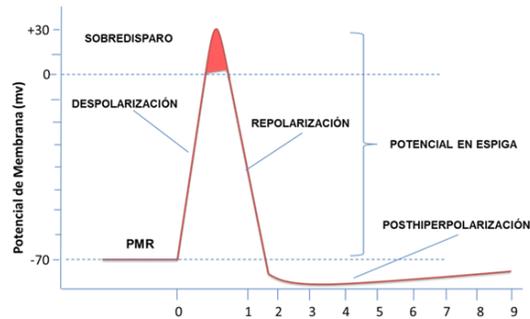


FIGURA 3. Componentes del potencial de acción en relación del tiempo y el voltaje. PMR: Potencial de Membrana en Reposo. (Reproducido de Blankenship, 2002).

La transmisión sináptica (sinapsis química) es un mecanismo unidireccional en el que la información fluye desde la célula presináptica hasta la postsináptica, nunca en dirección contraria; cuando aumenta la actividad de la célula postsináptica, la sinapsis se denomina potencial postsináptico excitatorio. Al contrario, cuando la actividad de la neurona presináptica provoca una disminución de la actividad de la célula postsináptica, la sinapsis se denomina potencial postsináptico inhibitorio.

En la sinapsis eléctrica, no existe diferenciación entre estructuras con vesícula sináptica (presinapsis) y sin ellas (postsinapsis). La hendidura sináptica es muy estrecha (GAP junction o Tight junction), con vías de alta conductancia, permitiendo que la despolarización o hiperpolarización de una de las neuronas provoque el mismo efecto de manera inmediata sobre la otra. La característica principal de este tipo de sinapsis es que es bidireccional y está limitada por la diferencia relativa en resistencia de ambas membranas, en general, la transmisión tiene un sentido preferencial (Cardinali, 2007).

En mamíferos, en general las sinapsis químicas consisten en la secreción de una pequeña cantidad de una sustancia química (un neurotransmisor), que es liberado por la neurona presináptica al espacio sináptico. Cuando el transmisor es liberado de su sitio de almacenamiento (vesículas sinápticas) por el efecto despolarizante del potencial de acción presináptico, los efectos sobre las células postsinápticas causan potenciales postsinápticos excitatorios o inhibitorios, dependiendo de la naturaleza de los receptores celulares y si éstos alcanzan el nivel de disparo de la célula postsináptica, desarrollarán un potencial de acción en la células

postsináptica que se propagará a la siguiente sinapsis, y así sucesivamente sobre todo en vías multisinápticas.

1.3. BARRERAS DE PERMEABILIDAD CEREBRAL

Aunque las características citológicas únicas de las neuronas y la glía son suficientes para establecer las complejas relaciones intercelulares del cerebro, hay que considerar el transporte de sustancias químicas que pasan del torrente sanguíneo al cerebro; y su transporte depende en base a su tamaño molecular, valencia, solubilidad y sistemas de acarreo específico.

En el sistema nervioso central existe una serie de mecanismos fisiológicos orientados al mantenimiento constante del sistema homeostático, en el cual participan características fisiológicas de las diferentes interfaces o barreras cerebrales, la cual la más importante es la hematotisular o hematoencefálica.

Algunos de los signos neuropatológicos que se caracterizan durante las crisis convulsivas en el sistema límbico, es la apertura de la barrera hematoencefálica, la activación de la microglia y astrocitos, seguidos de la neurodegeneración en hipocampo, amígdala y otras áreas del cerebro (Sperk et al., 1983; Du et al., 1993; Rizzi et al., 2003)

Una vez que una sustancia entra a los espacios perivasculares y extracelulares del cerebro, es probable que se encuentre pocas barreras que impidan su migración entre las célula, quizás por gradiente de concentración o por transportadores, y así llegar a las neuronas o glía y puedan incorporarse responder a ellas o metabolizarlas. Existe una alta incidencia de un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica después de haber sufrido una lesión cerebral traumática, sobre todo entre los pacientes que desarrollan epilepsia.

Los resultados de un estudio, publicado en 2011 muestran que el aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica produce cambios en las redes neuronales, actividad epileptiforme y neurodegeneración (Tomikins, 2011).

2. NEUROTRANSMISORES

La comunicación entre las células neuronales se lleva a cabo mediante mensajeros químicos, denominados neurotransmisores. Los neurotransmisores son sustancias químicas liberadas por las terminaciones nerviosas presinápticas con la llegada de un potencial de acción (despolarización) a la terminal sináptica, la cual origina un incremento de la concentración interna de calcio (Lozano, 2005).

Estas sustancias pueden encontrarse dentro del grupo de aminoácidos, aminas biógenas y neuropéptidos. Otras sustancias que pueden participar en la transmisión sináptica son las purinas, como la adenosina y el ATP (Edwards y Robertson, 1999; Moreau y Hubber, 1999; Baraldi y col., 200); el óxido nítrico (Cork eta al., 1998), y los derivados del ácido araquidónico (Mechoulam et al., 1996; Piomelli et al., 1998). Los primeros trabajos que se tienen acerca de los neurotransmisores en mamíferos se llevaron a cabo en células nerviosas teñidas con sustancias de Nissl por Ramón y Cajal (Velasco, 1986).

En 1926 el fisiólogo alemán Otto Loewi demostró experimentalmente que una sustancia liberada en el nervio vago denominada “sustancia del vago” regula la frecuencia cardiaca; más tarde se demostró que este agente era la acetilcolina (ACh), que en la actualidad es el neurotransmisor mejor estudiado (Velasco, 1986). En 1966 Werman realiza un intento de unificar los criterios para la identificación de los neurotransmisores en el sistema nervioso haciendo notar los criterios fisiológicos y farmacológicos enriquecidos por la aparición de nuevas técnicas de registro mediante microelectrodos.

En la actualidad los criterios de aceptación para que un neurotransmisor pueda ser considerado como tal son:

- I. La sustancia debe estar presente en el interior de la neurona presináptica (ser sintetizada en la neurona, y ser liberada en vesículas en cantidad suficiente para poder ejercer su acción definida en el órgano efector).
- II. La sustancia debe ser liberada en respuesta a la despolarización presináptica (dependiente de Ca^{2+}), estímulo neural fisiológico.

Una vez liberada en la hendidura sináptica son rápidamente eliminadas o degradadas.

III. Deben de existir receptores específicos en la célula postsináptica.

Las vías bioquímicas por las cuales se sintetizan los neurotransmisores son vías metabólicas complejas, algunos de los transmisores (glutamato, glicina, aspartato) participan en actividades metabólicas así como en la síntesis de proteínas por lo que su presencia no es evidencia suficiente para poder establecer su actividad como neurotransmisores; sin embargo la presencia de las enzimas y precursores químicos brinda pruebas que establecen su actividad como mensajeros químicos, lo cual sugiere que existen zonas específicas de accesible liberación en las terminaciones nerviosas independientes a la poza relacionada al metabolito intermedio. (Pasantés-Morales, 1983).

La fijación del neurotransmisor a receptores específicos sobre las neuronas postsinápticas (u otras clases de células) modifica en forma transitoria las propiedades eléctricas de las células postsináptica originando la hiperpolarización o despolarización de la neurona. Si no existen receptores específicos, los neurotransmisores “no” pueden actuar sobre su blanco. Por lo que la acción que ejerce un neurotransmisor involucra la activación o inactivación de receptores específicos acoplados a sistemas de membrana, y su efecto excitatorio o inhibitoria depende de la probabilidad de disparo de la célula postsináptica (Pasantés-Morales, 1983). El sistema nervioso emplea dos tipos fundamentales de neurotransmisores (Venegas, 2004):

1. Neurotransmisores de molécula pequeña: aminas biógenas (acetilcolina, norepinefrina, epinefrina, dopamina, serotonina e histamina), y aminoácidos. Su síntesis se desarrolla localmente en terminaciones presinápticas y son transportados de manera activa por vesículas, y actúan fundamentalmente sobre los canales iónicos.
2. Péptidos neuroactivos: péptidos opioides, hormonas digestivas, péptidos hipofisarios y hormonas circulantes.

Todas las sustancias que no cumplen con los criterios antes señalados se denominan: “Neurotransmisores putativos”. Un neurotransmisor se puede clasificar en base a los mecanismos a través de los cuales ejercen su acción, y podrían clasificarse de acuerdo con su localización en la neurona como: presinápticos, postsinápticos y extrasinápticos. La unión del neurotransmisor a sus receptores específicos consiste en el cambio de conductancia de la membrana postsináptica por apertura y cierre de canales específicos a ciertos iones (Cardinali, 1992).

De acuerdo a lo anterior, el mecanismo de acción del neurotransmisor postsináptico es por:

- I. Transmisores ionotrópicos: Modifican la conductancia de la membrana de la célula receptora a iones específicos. (Ejerce una respuesta de corto plazo).
- II. Transmisores metabotrópicos: Modifican la concentración de mensajeros internos neuronales, el tipo de respuesta que ejerce es de largo plazo debido al incremento de proteínas fosforiladas relacionadas con la excitabilidad de la neurona.

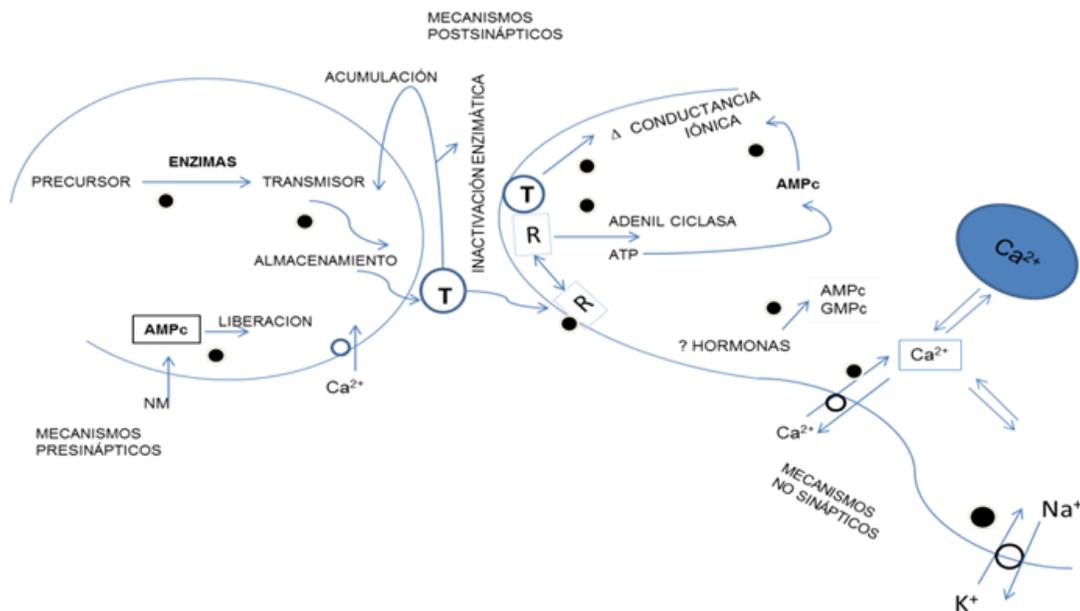


FIGURA 4. El mecanismo de acción de los neurotransmisores sobre la postsinapsis se restringe a la modificación de la conductancia de la membrana a iones específicos (transmisores Ionotrópicos) o al incremento de la actividad de la adenilciclase que aumenta los niveles de proteínas fosforiladas (transmisores Metabotrópicos) (Pasantes-Morales, 1983).

2.1. AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos son una serie de biomoléculas que no solamente participan activamente en el metabolismo homeostático como combustible metabólico en la generación de proteínas enzimáticas, proteínas de transporte o proteínas estructurales en el cuerpo humano, sino que también desempeñan múltiples funciones en el organismo como su participación en procesos bioquímicos en el sistema nervioso central, como son en los procesos excitatorios e inhibitorios durante el SE.

En el código genético sólo se consideran los 20 aminoácidos proteicos que regularmente se encuentran en las proteínas. Los aminoácidos tienen diferentes funciones en el organismo pero ante todo sirven como unidades básicas de los péptidos y de las proteínas (*L*-aminoácidos).

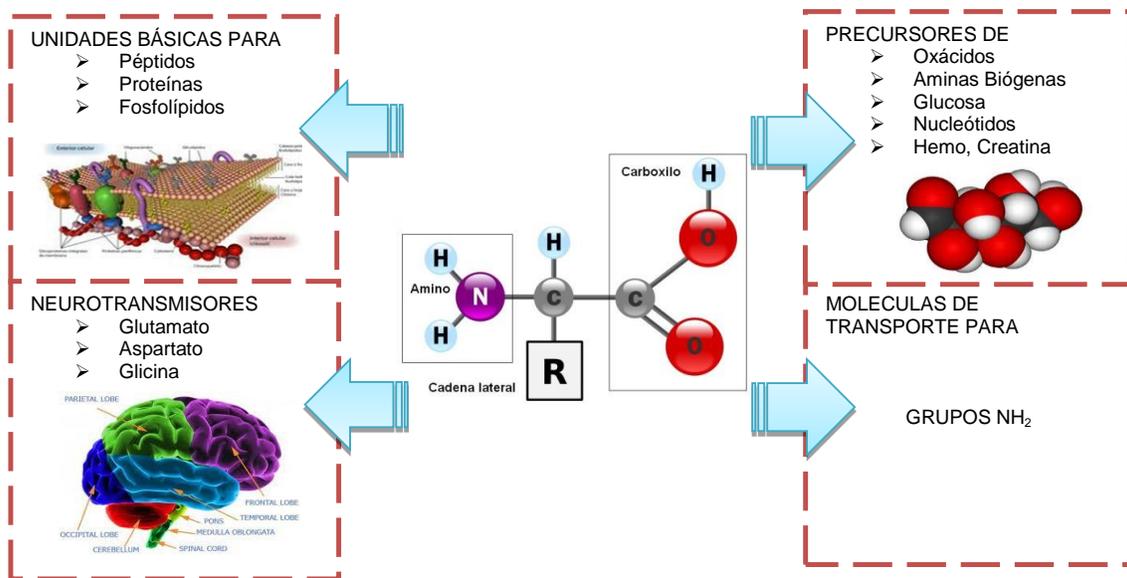
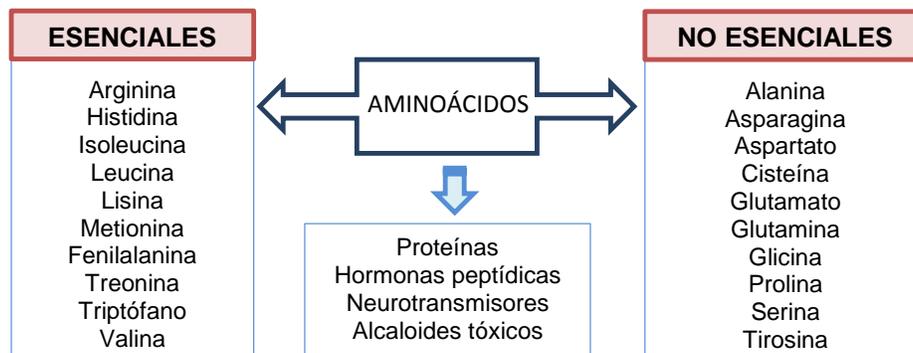


FIGURA 5. Funciones de los *L*-aminoácidos. Los aminoácidos comunes se conocen como α - aminoácidos, ya que tienen un grupo amino primario (-NH₂) y al grupo ácido carboxílico (-COOH). El grupo R diferencia a los 20 aminoácidos estándares (Koolman, 2004).

Algunos aminoácidos se desempeñan como neurotransmisores y otros como precursores de éstos, o de hormonas (Koolman, 2004).

Estos aminoácidos se consideran no proteicos y realizan funciones importantes como neurotransmisores, como por ejemplo GABA y taurina, su síntesis es a partir de otros aminoácidos o son formados en el metabolismo fisiológico (Lehninger, 1993).

Ciertos aminoácidos que se encuentran en las proteínas deben ser suministrados preformados en la dieta y son denominados “aminoácidos esenciales”. Otros pueden ser sintetizados en los tejidos a partir de intermediarios “amfibólicos” tal como ocurre en la glucólisis y el ciclo de los ácidos tricarbónicos y se denominan “aminoácidos no esenciales”.



En base a su actividad neurofisiológica se han separado a los aminoácidos en dos clases generales: aminoácidos excitatorios (ácido glutámico, ácido aspártico, ácido cisteico, y ácido homocisteico) que despolarizan las neuronas en el SNC de los mamíferos, y aminoácidos Inhibitorios (GABA, glicina, taurina y β -alanina), que hiperpolarizan las neuronas.

2.2. ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS

Las células producen una gran variedad de macromoléculas las cuales sirven como componentes estructurales, como reservorios de la información genética característica de una especie, y como hormonas, los dos casos principales de este tipo de macromoléculas son las proteínas y los ácidos nucleicos cuya unidad monomérica son los nucleótidos.

A pesar de que muchas de las proteínas poseen otras moléculas a parte de los aminoácidos, la estructura tridimensional y muchas de las propiedades biológicas de las proteínas están determinadas en gran parte a la cantidad de aminoácidos presentes, con el orden en que están dispuestos en cadena de polipéptidos, y a la relación espacial de un aminoácido y otro (Harper, 1971).

Los aminoácidos pueden clasificarse en base a la estructura química de su cadena lateral (la cual le constituye a los aminoácidos gran variedad química) y por su polaridad; a excepción de la glicina, cada aminoácido tiene por lo menos un átomo de carbono asimétrico por lo que son ópticamente activos.

Éstos compuestos orgánicos poseen dos grupos funcionales débilmente ácidos: un grupo amino ($-R-NH_3^+$) y un grupo carboxilo ($-R-CO_2H$). En la mayor parte de los aminoácidos naturales, el grupo amino se encuentra en posición α , pero puede estar en posición β (β -alanina, ácido β -aminoisobutírico) o γ (ácido γ -aminobutírico). Todos los aminoácidos que constituyen a las proteínas (aminoácidos proteinógenos) tienen una configuración *L* en el carbono α (Seyhan, 2004). El método más común y útil de clasificar a los 20 aminoácidos “estándares” es por la polaridad de sus cadenas laterales (Grupo R). De acuerdo a este esquema de clasificación, hay tres tipos principales de aminoácidos (Voet, 2004):

1. Con grupo R apolares.

Nueve aminoácidos se conocen como poseedores de cadenas laterales no polares: metionina, glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina, triptófano y fenilalanina.

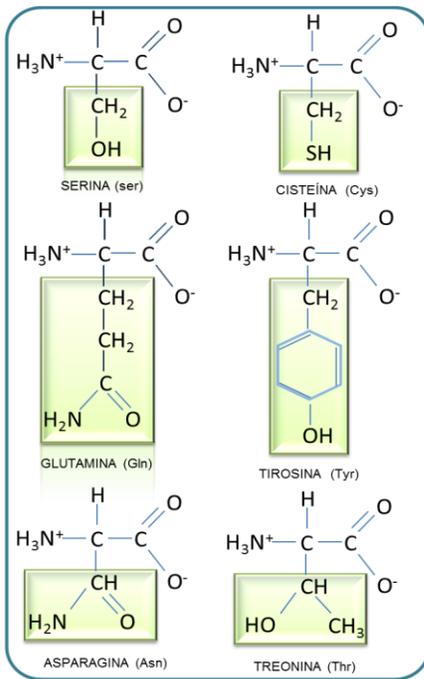
2. Con grupo R polares no cargados.

Seis aminoácidos se clasifican normalmente en este grupo: serina, cisteína, glutamina, tirosina, asparagina y treonina.

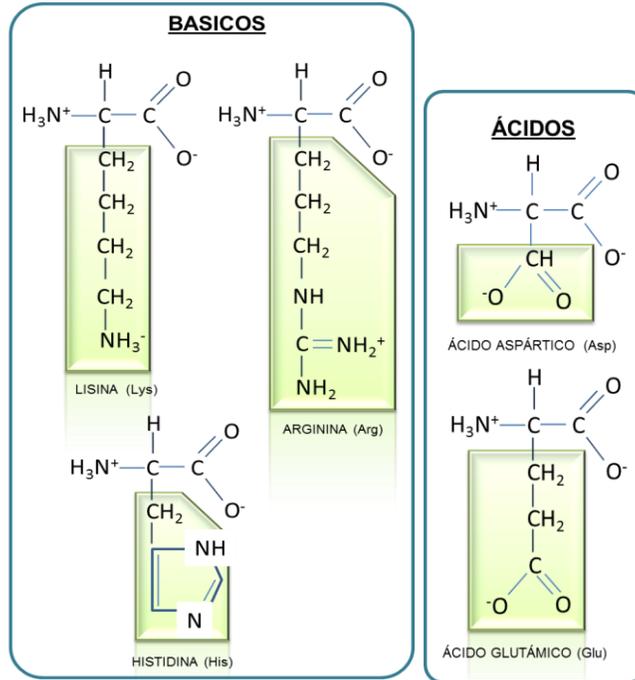
3. Con grupo R polares cargados.

Cinco aminoácidos tienen cadenas laterales cargadas, los aminoácidos básicos tienen carga positiva a valores fisiológicos de pH, y los aminoácidos ácidos tienen carga negativa a pH superior a 3. Estos aminoácidos son la lisina, arginina, histidina, ácido aspártico y ácido glutámico

POLARES (NEUTROS)



POLARES CON CARGA ELÉCTRICA



NO POLARES (NEUTROS)

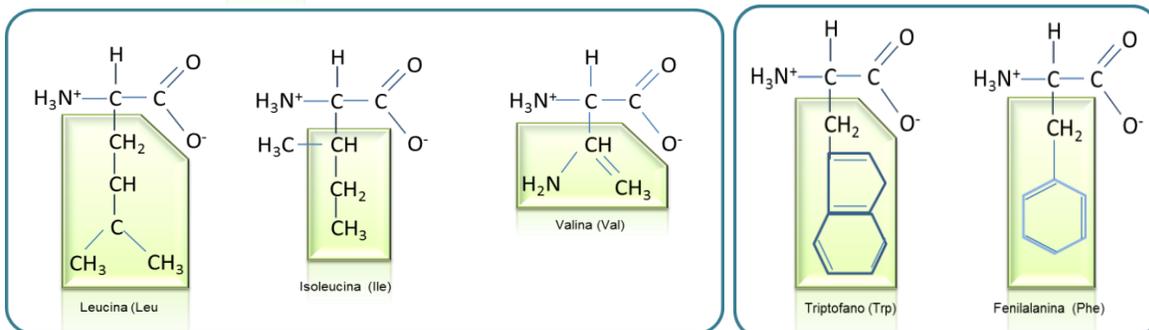
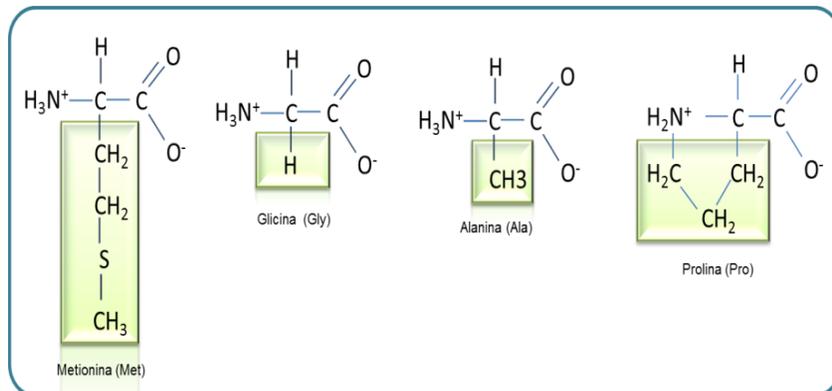


FIGURA 6. Estructura química de los 20 aminoácidos más comunes en las proteínas. Los grupos orgánicos pueden ser polares, no polares o con carga eléctrica.

2.3. ACITIVIDAD E IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE LOS AMINOÁCIDOS

Los α -aminoácidos y sus derivados participan en una gran diversidad de funciones celulares como son: la transmisión nerviosa, la biosíntesis de porfirinas, purinas, pirimidinas y urea, precursores de moléculas de señalización intracelular (Óxido Nítrico), precursores en la síntesis de otros aminoácidos. Los aminoácidos son necesarios para incorporarlos a las proteínas de la sangre y de los tejidos. Además muchos de los aminoácidos son utilizados en la formación de polipéptidos, hormonas y enzimas. Los péptidos llevan a cabo funciones regulatorias importantes a lo largo de todo el organismo: en el sistema neuroendocrino como hormonas (o precursores de hormonas), factores que liberan hormonas, toxinas, neuromoduladores o neurotransmisores.

El cuerpo humano contiene una extensa variedad de proteínas y cerca del 50% del peso seco corporal se compone de ellas. Muchas de las propiedades biológicas de las proteínas se determinan en gran parte por la clase de aminoácidos presentes, aunque se encuentren estructuralmente constituidas por otras moléculas. El metabolismo humano sólo puede sintetizar 10 de los 20 aminoácidos presentes en las proteínas, por lo que nutricionalmente deben consumirse en la dieta en cantidades adecuadas.

Una dieta deficiente o excesiva en aminoácidos produciría enfermedades metabólicas, que podrían producir daños irreversibles a nivel cerebral principalmente y/o mortalidad a edades tempranas. Esto a su vez también debido a las deficiencias genéticas en algunas de las enzimas de biosíntesis o de degradación. Este tipo de regulación dada por la disponibilidad de nutrientes precursores de neurotransmisores es relevante tanto en el caso de aminas biógenas como de los neuropéptidos o aminoácidos neurotransmisores, y se denomina “regulación extrínseca de la liberación de neurotransmisor” (Cardinal, 1992).

La mayoría de los aminoácidos no esenciales participan activamente a nivel del sistema nervioso central o directamente en el cerebro, como neurotransmisores o precursores de éstos por vías metabólicas simples. La tirosina da lugar a la familia de las catecolaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina), y su deficiencia se relaciona a la enfermedad de Parkinson debido a una baja concentración de dopamina. Una sobreproducción de dopamina se relaciona con enfermedades psíquicas como la esquizofrenia o con autismo (Cooper, 1982).

Una deficiencia en el ácido γ -aminobutírico (GABA), un neurotransmisor inhibitorio, se relaciona con los ataques epilépticos, y se sintetiza a partir de una descarboxilación del glutamato. Tres de los aminoácidos aromáticos esenciales (fenilalanina, triptófano, e histidina) se asocian a errores congénitos del metabolismo que produce retraso mental, y todos producen aminas neuroactivas (Patiño, 2008).

2.4. AMINOÁCIDOS COMO NEUROTRANSMISORES

El cerebro es un órgano que transmite y almacena información, por lo que las rutas bioquímicas que llevan a cabo se interrelacionan en conjunto. Dentro del ciclo de Krebs se generan los substratos que dan origen a los aminoácidos que participan como neurotransmisores (aminoácidos no esenciales), por lo que muchos de los aminoácidos derivan del α -cetoglutarato y del oxalacetato.

Los primeros transmisores considerados para funciones centrales fueron la acetilcolina (ACh) y la noradrenalina (NE). En los años 60 se investigaron como transmisores potenciales del sistema nervioso central a la serotonina, adrenalina y dopamina (Velasco, 1986). Actualmente se reconocen a cuatro aminoácidos como neurotransmisores, los cuales son: ácido glutámico, ácido aspártico, GABA y glicina.

El glutamato es una fuente de energía en la fosforilación acoplada y participa activamente como un aminoácido para la síntesis de proteínas, es precursor del ácido γ -aminobutírico (GABA) y es el principal neurotransmisor excitatorio denominado como “excitatorio universal”. Su síntesis es a partir del α -cetoglutarato o de la glutamina. En el cerebro se encuentra en dos depósitos celulares: en las células gliales y en las neuronales, siendo las células gliales depósitos de almacenamiento y regulación de la concentración de este aminoácido, y por consiguiente también de GABA.

La glutamina es el aminoácido precursor del ácido glutámico, sin embargo no se forma en las terminales nerviosas; su síntesis es principalmente de naturaleza glial (astrocitos), por lo que existe una interacción metabólica entre la neurona y la célula glial, para el mantenimiento de las pozas del ácido glutámico y aspártico relacionadas con la neurotransmisión.

El ácido aspártico tiene una actividad central excitadora en presencia de acetil CoA formando en el cerebro la N-acetilaspártato, este compuesto después del ácido glutámico es el derivado o el aminoácido con mayor concentración en el cerebro.

GABA es el neurotransmisor inhibitorio presináptico por excelencia del SNC aun cuando puede inducir una respuesta hiperpolarizante como despolarizante, lo cual se puede deber a un cambio en el receptor de GABA mediado por la conducción del ión cloruro. GABA se forma a partir de la descarboxilación enzimática del glutamato, mediada por la enzima glutamato descarboxilasa (GAD), y que utiliza como coenzima el fosfato de piridoxal, el cual es si no el único, si el más importante mecanismo regulador de la actividad de la GAD.

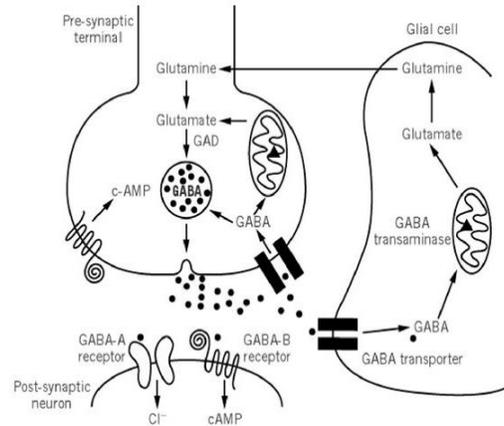


FIGURA 7. Esquema de la sinapsis GABAérgica en vertebrados.

Las concentraciones del ácido glutámico no es un factor limitante en la síntesis de GABA, sino que hay vías metabólicas exclusivas para la síntesis del ácido glutámico, el cual se emplea como sustrato (Cooper, 1982). Su acción está mediada por receptores ionotrópicos GABA_A (canales dependientes de ligando) y metabotrópicos GABA_B (acoplados a proteínas G). El GABA se modifica en diversos estados anímicos y bajo el empleo de distintos fármacos. Este efecto hiperpolarizante es dependiente del influjo de Cl⁻, por lo que se considera que el receptor de GABA se encuentra acoplado a un canal de cloruro, acoplados a su vez a los sitios de unión de las benzodiazepinas (Patiño, 2008).

La glicina es un aminoácido que se encuentra presente en todos los tejidos, pero la función inhibitoria de esta sustancia se limita a la médula espinal, el tallo del cerebro bajo, y quizás también a la retina. En el tejido nervioso los niveles de glicina pueden mantenerse por medio de un flujo neto de la sangre o por su síntesis a partir de glucosa; serina o glioxalato por la acción de la transaminasa con el glutamato. La Taurina es un aminoácido sencillo con un alto grado de estabilidad química, peso molecular bajo y con reactividad metabólica muy baja. Se encuentra en concentraciones relativamente altas en una gran diversidad de tejidos incluyendo el cerebro en los mamíferos y puede actuar como transmisor o neuromodulador en el sistema nervioso central.

2.5. EFECTOS DE LOS AMINOÁCIDOS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Los aminoácidos que actúan en el SNC como neurotransmisores se diferencian de los demás neurotransmisores como la serotonina, catecolaminas y acetilcolina en dos aspectos principales. Primero, su acción se limita al SNC, por lo que, al carecer de efectos periféricos, puede esperarse que su toxicidad sea baja. Segundo, su concentración como neurotransmisor es más elevada (Avedaño, 2001).

El efecto de los aminoácidos sobre la mayor parte de las neuronas del sistema nervioso central está relacionado con diferentes tipos de receptores membranales. En 1950 Roberts y Awapara descubrieron la existencia de GABA en el cerebro. El interés por éste aminoácido se originó inicialmente por el hecho de que en vertebrados se encuentra en concentraciones exclusivas en el cerebro y sólo en cantidades muy pequeñas se han podido demostrar en otros órganos (Pasantés-Morales, 1983; Velasco, 1986).

La modificación de los niveles de GABA observada en los procesos convulsivos podría estar asociada a una disminución de la GAD (glutamato descarboxilasa), un incremento en los mecanismos de liberación, una disminución en la actividad o un aumento en su degradación, sin embargo las evidencias experimentales señalan que el factor determinante en la disminución de GABA que acompaña a los procesos convulsivos es la disminución de la actividad de la DAG (Meldrum, 1975 y Tapia, 1980).

El catabolismo de GABA se encuentra en las mitocondrias y está estrechamente vinculado con el Ciclo de Krebs. Los patrones fundamentales de la depresión propagada sobre la actividad neuronal tiene importantes implicaciones clínicas, ya que parece que se traducen en dos diferentes patrones temporales que se caracterizan en déficits neurológicos: en la cognición del paciente, la percepción y/o comportamiento.

El patrón de la depresión por lo tanto determina los síntomas clínicos, pero no determina si las neuronas sobreviven o mueren. Se supone que la cuenta regresiva a la muerte neuronal es iniciada por el proceso de despolarización-propagación y sus efectos tóxicos, incluyendo aumento de calcio intracelular, la despolarización mitocondrial y la liberación masiva de aminoácidos excitatorios (Somjen, 2001; Dreier, 2011).

La glicina actúa como aminoácido inhibitor, se encuentra estrechamente relacionada con el metabolismo intermedio, y es considerado un aminoácido glucogénico. Una de las funciones especiales de la glicina se encuentra en la síntesis del residuo de porfirina de la hemoglobina (grupo Hemo) y se ha ubicado más en el sistema nervioso periférico, y a nivel de la médula espinal, encontrándose en poca concentración en el sistema nervioso (Harper, 1971). Un déficit de glicina o bloqueo de sus receptores (receptores tipo canales de Cl⁻, formado por cinco unidades proteicas variables) produce convulsiones, por tanto sus agonistas son potencialmente útiles como anticonvulsivos (Avedaño, 2001).

En conjunto los tres aminoácidos aromáticos esenciales: fenilalanina, triptófano e histidina, están asociados con errores congénitos del metabolismo que producen retraso mental y todos producen aminas neuroactivas. (Cooper, 1982).

Actualmente se considera que la mayor parte de las neuronas excitadoras en el SNC de vertebrados utilizan a los aminoácidos como neurotransmisores (ácido glutámico, ácido aspártico). El ácido glutámico se encuentra implicado en la comunicación de la mayor parte de las sinapsis excitadoras del encéfalo, por lo que un aumento en su actividad puede ser la causa de procesos neurodegenerativos, sin embargo sus agonistas podrían ser útiles en problemas de aprendizaje y memoria. Estudios realizados en cortes de hipocampo y corteza cerebral han demostrado que existe una evidente compartimentalización de estos aminoácidos (ácido glutámico y ácido aspártico) en las neuronas; es decir, hay pozas específicas relacionadas con su función de transmisores y pozas que interactúan activamente con las del metabolismo intermedio (Velasco 1986).

La acción del aspartato es muy similar a la del glutamato, pero en la mayoría de los casos es menos potente.

Las células gliales, en especial la astrogλία, desempeñan un papel muy importante para regular los múltiples componentes del espacio intracelular, particularmente en el flujo de iones y aminoácidos precursores de neurotransmisores, ya que la vía de síntesis de glutamina es fundamentalmente de naturaleza glial (astrocitos); por lo que se presenta una estrecha interacción metabólica entre la neurona y la célula glial para el mantenimiento de las pozas del ácido glutámico y ácido aspártico relacionadas con la neurotransmisión.

Los mecanismos por los cuales se eliminan los neurotransmisores varían, pero siempre implica la difusión combinada con la recaptación en las terminaciones nerviosas o las células gliales circundantes, la degradación por enzimas específicas o, en algunos casos, una combinación de éstas.

3. HISTORIA DE LA EPILEPSIA

Las primeras referencias históricas que se encuentran sobre la epilepsia, provienen de Egipto (3000 a. C), y de Mesopotamia (1700 a.C). De acuerdo al historiador Dipgen los egipcios de las escuelas de la Heliópolis, Menfis y Tebas, tenían conocimiento de la enfermedad y la consideraban en un rango de divina.

En 1760 a.C el rey Hamurabi de Babilonia en uno de los artículos del Código Hamurabi considera la epilepsia como la "Enfermedad de Bennu". Hipócrates (460-375 a.C.) fue el primero en considerar que la epilepsia tenía su origen en el cerebro. La epilepsia se considera como una de las afecciones más antiguas, Galeno 175 AC, observó características idiopáticas y sintomáticas de las crisis epilépticas; en la cual un individuo perdía sus sentidos en forma imprevista, dando así su significado etimológico a epilepsia que proviene del griego επιληψια : sorpresa, o epilambaneim que significa "ser sobrecogido bruscamente", y que durante el siglo XVI fue confirmada por Ambrosio Paré.

En México, Martín de la Cruz (médico azteca del siglo XVI), en el código Badiano (1552), realiza algunas referencias sobre el tratamiento de la epilepsia. Sin embargo, es hasta el siglo XIX, en 1802, cuando Heberden describe las características clínicas que se presentan de manera diferente en un niño y en un adulto. Para 1815 Jean Etienne Dominique Esquirol acuñó los términos gran mal y pequeño (petit) mal (SSA, 1999).

En 1827 Bravais describió las crisis que actualmente se denominan parciales de efectos motores, y Hughlings Jackson durante el mismo siglo XIX describió estas crisis y fue el primero en proporcionar una base conceptual a lo que es el síndrome epiléptico, iniciando los conceptos de “descarga neuronal excesiva”, y describió meticulosamente la llamada epilepsia Jacksoniana (síndrome de convulsiones focales, precedida frecuentemente de un aura de temblor y a veces de parestias residuales). En 1874 Jackson clasifica a la epilepsia en crisis generalizadas y parciales; sin embargo es hasta 1964-1969 cuando la ILAE (Liga Internacional Contra la Epilepsia) pone en marcha esta clasificación.

En septiembre de 1981 se aprueba una nueva clasificación de crisis epilépticas, en base a su expresión clínica y electroencefálica. En 1989 la estructura de la clasificación se basa en dos criterios fundamentales: el topográfico y el etiológico (crisis y síndromes epilépticos) (Bustos, 2009; Quintero, 2009; Eslava, 2009; Nariño, 2009).

En 2001 la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) propone una nueva clasificación de la epilepsia en cinco ejes que reflejan los hallazgos que se conocen a esta fecha. En 2010 la comisión presentó su nueva propuesta de clasificación tanto de crisis epilépticas como de los síndromes epilépticos, existiendo una evolución al establecer una clasificación y terminología estandarizada, pretendiendo armonizar un vocabulario universal, así como su taxonomía (Gómez-Alonso, 2011; Bellas-Lamas, 2011).

4. GENERALIDADES Y CLASIFICACIÓN DE LA EPILEPSIA

La epilepsia engloba un grupo heterogéneo de enfermedades que se asocia con alteraciones neurológicas y sistémicas. Las manifestaciones clínicas reflejan la función de la corteza cerebral afectada, por lo que se presentan alteraciones de la conciencia, memoria, lenguaje, manifestaciones sensoriales y motoras principalmente. Se presenta en todas las edades, es más frecuente en personas menores de 20 años y mayores de 60 años, sin embargo en la mayoría de los casos se presenta durante la adolescencia, teniendo menor prevalencia en el adulto joven, adultos y ancianos (SSA, 1999).

La mayoría de las personas que presentan epilepsia (del 55 a 89% de los casos), se debe a causas desconocidas, por lo que se denomina epilepsia idiopática. La epilepsia Criptogénica (Criptogénica significa "que tiene origen oculto") se aplica cuando no se tiene un criterio o características fisiopatológicas y electroencefálica que pueda clasificar a la epilepsia como sintomática, idiopática, etc. La característica clínica más importante de la epilepsia es la variabilidad de las manifestaciones según el sitio de descarga, al igual que lo impredecible de su presentación y reaparición, con periodos asintomáticos que pueden durar minutos, días, meses o años.

Los mecanismos precisos que intervienen en la producción de la descarga neuronal se deben a factores descritos anteriormente, pero que en resumen se mencionan a continuación (Cooper, 1982; Velasco, 1986):

- a) Alteraciones en los potenciales de membrana neuronal (gradientes de concentración iónica: Ca^{2+} , Na^{+} , K^{+}).
- b) Alteración en la transmisión sináptica (liberación de neurotransmisores excitatorios o inhibitorios sobre la membrana de la célula postsináptica).
- c) Alteración de la actividad de los centros neuronales inhibitorios.
- d) Alteración generalizada de la excitabilidad neuronal (mecanismos bioquímicos o bioeléctricos, como la fiebre, sobre hidratación, alcalosis, entre otras).

- e) Alteración del umbral epiléptico encefálico (trastornos físicos, estímulos aferentes, crisis epilépticas sin causa demostrable con o sin trastorno encefálico previo).

Finalmente la definición y clasificación de epilepsia aceptada por la ILAE y la OMS establece que, para que una crisis epiléptica sea considerada como epilepsia, esta tiene que ser recurrente y espontánea. La OMS en el año 2009 establece que la epilepsia es una enfermedad cerebral crónica, caracterizada por ataques recurrentes debidas a descargas eléctricas excesivas, súbitas, de grupos de células cerebrales, localizadas en diferentes partes del cerebro.

Los datos estadísticos que se tiene al año 2009 por la OMS, son 50 millones de personas con Epilepsia y que de estas el 90% de los pacientes se encuentran en países en vías de desarrollo, debido a que existe un mayor riesgo de sufrir afecciones que puedan producir daño cerebral permanente. El tipo más frecuente de epilepsia es la idiopática (causa desconocida), que se presenta de en 6 de cada 10 casos. Por tanto existen causas conocidas y desconocidas que el paciente epiléptico presente, por lo que la ILAE desde 1969 al año 2010 presenta una clasificación extensa (Bustos, 2009; Quintero, 2009; Eslava, 2009; Nariño, 2009).

La alteración de la conciencia es la incapacidad para responder normalmente a estímulos externos. El término *status epiléptico* implica que una crisis epiléptica persiste por periodos prolongados o se repite lo suficiente para producir un estado epiléptico fijo y duradero, y se valora como las crisis epilépticas que se prolongan por más de 5 minutos o que suceden sin recuperación de la conciencia o del estado neurológico previo. De acuerdo a la comisión, se considera crisis parciales o focales a la crisis que se origina en un punto, dentro de redes bilateralmente distribuidas, y se difunde rápidamente sin necesidad de abarcar toda la corteza cerebral.

En la actualidad se distingue una crisis epileptiforme de una crisis epiléptica; en la primera puede ser simplemente un síntoma reactivo a un problema cerebral agudo (fiebre, trauma craneal, etc.), y la segunda es una crisis recurrente, no provocada.

TABLA 1. Clasificación de Crisis Epilépticas (Liga Internacional Contra la Epilepsia/1981-Tipos de Crisis)

	Son aquellas en las que el primer evento clínico y electroencefálico señala una activación de un grupo neuronal en uno o ambos hemisferios. Se clasifican de acuerdo a si se altera la conciencia en:
I. Crisis parciales	<ul style="list-style-type: none"> a) Crisis Parcial Simple (no se altera la conciencia) b) Crisis Parcial Compleja (se altera la conciencia) c) Crisis parciales que evolucionan a convulsiones Tónico-Clónicas Generalizadas (CTG)
II. Crisis generalizadas	<p>Convulsivas o no convulsivas, y son aquellas en las que la primera manifestación señala inclusión de ambos hemisferios (manifestaciones motoras son bilaterales).</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Crisis de Ausencias b) Ausencia que progresa a convulsiones Tónico-Clónica generalizada.
III. Crisis epilépticas no clasificadas	Son aquellas crisis que no se pueden clasificar debido a falta de datos y cuyas características no se encuentran dentro de las clasificaciones anteriores, como son algunas crisis neonatales, movimientos aculares rítmicos y masticatorios.

TABLA 2. Clasificación de Crisis Epilépticas (Liga Internacional Contra la Epilepsia/1989- Síndromes Epilépticos)

I. Crisis parciales	<ul style="list-style-type: none"> a. Parcial Sintomática.(Cuando la Epilepsia es secundaria a un trastorno identificable) b. Sintomática Temporal.(Localización por lóbulos, Lóbulo Temporal) c. Sintomática Frontal. d. Criptogénica. (Pacientes con retraso en el desarrollo psicomotor, con problema estructural cuya etiología no es identificada.
II. Crisis generalizada	<ul style="list-style-type: none"> a. Epilepsia Ausencia Juvenil b. Epilepsia mioclónica Juvenil c. Síndrome Lennox Gastaut
III. Crisis epilépticas NO determinadas	<ul style="list-style-type: none"> a. No Determinadas.

Los factores primordiales que dan lugar a una nueva clasificación, se deben a los avances tecnológicos, el progreso del conocimiento y el desarrollo de nuevos fármacos antiepilépticos a lo largo de dos décadas. En el Congreso Mundial de Buenos Aires en el año 2001, se aprueba un esquema que provee las bases para una descripción estandarizada de pacientes con Epilepsia, y consta de 5 ejes.

TABLA 3. Clasificación de Crisis Epilépticas (ILAE / 2001)

EJE 1	
Descripción de semiología Ictal	<ul style="list-style-type: none"> • Sin referencia a etiología, anatomía o mecanismo, puede ser breve o detallada clínica o de investigación.
CRISIS	
Crisis generalizadas	<ul style="list-style-type: none"> • Ausencias Típicas • Atónicas. • Mioclónica
Crisis focales	<ul style="list-style-type: none"> • F simple síntomas sensitivos específicos. • F simples signos motores Clónicos. • Secundarias generalizadas.
No clasificable	<ul style="list-style-type: none"> • Crisis no existente en eje 2. • Semiología desconocida.
SÍNDROMES	
Síndromes generalizados	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome Lennox Gastaut. • Epilepsia ausencia juvenil. • Epilepsia mioclónica juvenil.
Síndromes parciales	<ul style="list-style-type: none"> • Parcial sintomática o probable/sintomática. • Esclerosis Mesial Temporal. • Epilepsia límbica otra etiología.
Síndromes NO determinados	<ul style="list-style-type: none"> • No definidos
ETIOLOGÍA	
	<ul style="list-style-type: none"> • Anomalías Corticales del desarrollo. • Tumores. • Anomalías cromosómicas. • Encefalopatías no progresivas • Infección postnatal • Otros factores postnatales. • No identificados.
EJE 5	
Opcional del desarrollo, su causa se especifica por la condición de Epilepsia	

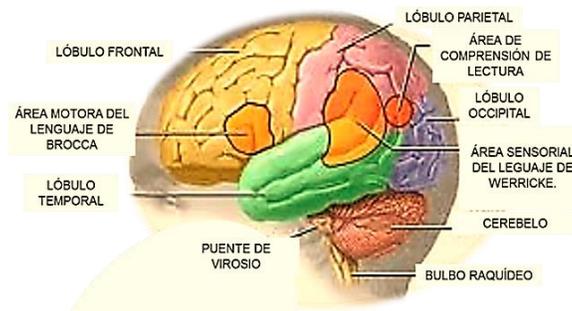
La clasificación del 2010 no contempla la división de las epilepsias en focales y generalizadas por considerarlas inadecuadas, al igual que elimina los tres subtipos etiológicos vigentes sustituyéndolos en:

- a) Epilepsias genéticas. (Se relaciona con el síndrome de Dravet con alteraciones del gen SCN1A).
- b) Epilepsias de causa estructural/ metabólica. (Cuando hay evidencia definida y se asocia a un incremento sustancial de sufrir una epilepsia).
- c) Epilepsias de causa desconocida. (Aquellas en las que se ignora la etiología, y se cita como ejemplo la epilepsia rolándica benigna, etc.).

El trastorno de la función cerebral, al igual que la alteración de la conciencia se puede deber a factores como la epilepsia, a el flujo sanguíneo (funcional y/o patológico), lesiones del encéfalo, alteraciones psicogénicas, etc..., sin embargo el resultado de una descarga epiléptica depende del área del encéfalo en que se origine y de su grado de diseminación en el mismo; se considera una frecuencia relativa de 38% de epilepsia generalizada y un 62% de epilepsia parcial.

4.1 EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL

La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) representa el tipo de crisis más frecuente dentro de las epilepsias de origen focal. Corresponde a un síndrome epiléptico dentro del cual se incluyen crisis originadas en estructuras mesio-basales (hipocampo, amígdala, corteza entorrinal) o en neocorteza temporal lateral, siendo las más frecuentes las originadas en las zonas temporales mediales. De todas estas estructuras probablemente la más importante fisiopatológicamente es el hipocampo.



FUGRA 8. Corteza Cerebral.

La mayoría de las crisis con algún trastorno de la función psíquica pueden ser identificadas con la ELT, la causa que comprenden a este tipo de crisis se debe a que es particularmente vulnerable a lesiones, y por tanto a la producción de focos epilépticos (*lobus temporalis* en latín; en el lóbulo temporal se encuentra la región del hipocampo, el cual desempeña un papel fundamental en la memoria de largo plazo). Algunas de las causas son (Sutherland, 1982):

- Herniación del Hipocampo, puede ocurrir durante el nacimiento o como resultado de un edema cerebral en el lactante. La herniación impide la circulación sanguínea del lóbulo temporal, con lesión anóxica y gliosis (esclerosis del Cuerpo de Ammon, esclerosis medial del Lóbulo Temporal).
- Anoxia e Hipoglucemia.
- Lesiones craneales.
- Infecciones, del oído medio y de la mastoides.
- Infartos, neoplasias, malformaciones vasculares, que cuando se relaciona a la superficie medial del lóbulo temporal, se produce una mayor potencia epileptogénica que las lesiones que ocurren en otra parte cerebral.

La ELT y en general, pueden dar origen a una gran variedad de síntomas que se pueden presentar al inicio del *status epiléptico*, y que pueden variar de una persona a otra, este tipo de crisis son de semiología sensitivo-sensorial e involucra a la crisis visual, crisis auditiva, crisis olfatoria y crisis gustativa. Este tipo de crisis traducen el desarrollo de la descarga epiléptica en los sectores destinados a la recepción de los mensajes sensoriales, y conllevan a trastornos en algunos de los sentidos.

La sensación epigástrica es una alucinación somática y es de los síntomas más comunes, que comienza en el epigastrio y asciende hacia el tórax y la garganta, mientras que las alucinaciones pueden afectar la percepción del olfato, del gusto, la vista y la postura. Los trastornos afectivos también se presentan debido a que se incluye al sistema límbico en la superficie interna de lóbulo temporal, y estos trastornos incluyen episodios de ansiedad, depresión, o sentimientos paranoides.

Por otra parte, se ha establecido que la pérdida neuronal afecta tanto a neuronas excitadoras como inhibitoras. Es decir, las múltiples patologías y la escasa relación directa entre lesión y epileptogenicidad hace extremadamente difícil enunciar una hipótesis unificadora que explique el sustrato patológico de la epileptogenicidad (Ben-Ari, 2010).

En modelos experimentales se ha observado una pérdida neuronal después de la inducción de ataques epilépticos provocados químicamente con sustancias tales como la bicuculina, ácido kaínico y pilocarpina o mediante la estimulación electrofisiológica repetida en amígdala, el BO e HIP, llegando a generar daños permanentes en el órgano diana.

Los dos modelos más usados para estudiar la ELT en animales de laboratorio son el kindling y el modelo de estado epiléptico. Aunque ambos inducen un estado epiléptico crónico, el proceso de epileptogénesis difiere sustancialmente, así como diferentes aspectos fisiopatológicos. El fenómeno de kindling, descubierto por Goddard en los años sesenta, consiste en la estimulación repetida y periódica de estructuras del sistema límbico (típicamente de la amígdala, la corteza o el hipocampo), que dan lugar a la aparición de crisis epilépticas secundariamente generalizadas.

Se reconoce el kindling como un modelo progresivo de ELT en el cual no existe necesariamente daño morfológico, este modelo se usa en la evaluación de fármacos antiepilépticos, pues se ha demostrado que los compuestos que son efectivos en el tratamiento de la ELT en el hombre, inhiben las crisis inducidas por kindling.

En el modelo de estado epiléptico se utilizan diferentes agentes convulsionantes (inyección sistémica o intracerebral), como el ácido kaínico y la pilocarpina, para inducir una fase aguda de estado epiléptico caracterizado por crisis tonicoclónicas de origen límbico que no ceden. Una vez superada esta fase que debe interrumpirse farmacológicamente, los animales desarrollan un período libre de crisis denominada “fase latente”, seguida de la emergencia brusca de crisis recurrentes espontáneas “fase crónica” semanas más tarde (Velasco, 1986).

En contraste con el kindling, las alteraciones anatómicas presentes en el hipocampo de las ratas sometidas al modelo de estado epiléptico resultan similares a las descritas en el humano, por lo que éste constituye el modelo más aceptado de ELT, no obstante, es importante reconocer las diferencias de cada modelo con el caso humano y utilizarlos de manera complementaria para comprender los diferentes aspectos fisiopatológicos.

4.2 LA EPILEPSIA A NIVEL MUNDIAL

La epilepsia es una de las enfermedades más antiguas, y que actualmente se conoce sus efectos neuroquímicos en el cerebro, sin embargo no existe tratamiento farmacológico que actúe puntualmente sobre el foco epiléptico, y diagnóstico preciso que determine la causa de la epilepsia. Este padecimiento afecta a 50 millones de personas en todo el mundo (Sander, 2003). De acuerdo con estudios epidemiológicos, aproximadamente el 70 a 80 por ciento de los pacientes epilépticos logran responder positivamente al tratamiento, en el que se logra tener ausencia parcial o total de la enfermedad de epilepsia; pero todavía hay pacientes que no responden a los tratamientos que actualmente se encuentran disponibles (Cooper, 1982).

Las crisis originadas en el lóbulo temporal son de particular importancia, ya que comprenden la tercera parte de todas las epilepsias, y el contenido psíquico de las crisis las hacen en especial susceptibles a un diagnóstico equivocado.

En algunos países europeos el 0.5% de la población sufre epilepsia, en México según datos proporcionados por el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de la secretaria de salud en los años 90's se presentaba en el 1% de la población.

En un estudio realizado en el año de 1983 por García-Pedroza et al, se obtuvo como resultado que la diferencia en la tasa de prevalencia de epilepsia en el continente americano (E.U, México, Chile, entre otros), se puede deber a las diferencias étnicas de las poblaciones estudiadas, o probablemente a factores ambientales, como la cisticercosis cerebral, condiciones de atención del parto y al cuidado del recién nacido entre otras (SSA, 1999).

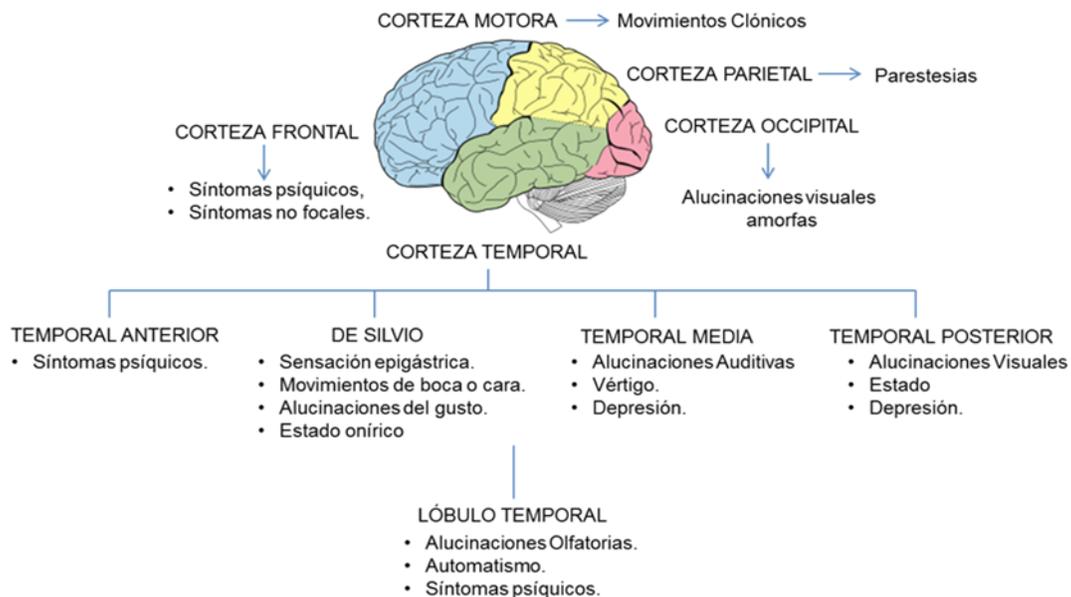


FIGURA 9. Manifestaciones de la Epilepsia de tipo Parcial (Cooper, 1982).

En general la tasa de mortalidad por epilepsia es baja, la OMS considera que se debe de valorar si la causa de muerte en realidad corresponde a un grupo de patologías que producen algún tipo de convulsiones o *status epileptico*, o son crisis recurrentes que lleva a la persona que lo padece a la muerte. En algunos lugares de latinoamérica y países subdesarrollados se considera a la neurocisticercosis como causa principal de epilepsia (SSA, 1999).

4.3 LA EPILEPSIA EN MÉXICO Y TRATAMIENTO MEDICO.

La Secretaria de Salud en México en el año de 1988 clasifica a la epilepsia desde el punto de vista epidemiológico como una afección etiológica diversa, caracterizada por crisis recurrentes (no provocadas), debidas a descargas excesivas en zonas específicas en el cerebro asociadas a manifestaciones clínicas. En un estudio realizado en México a nivel escolar básico se encontró que existen más casos de padecimiento de epilepsia en mujeres que en hombres (Rubio Donnadieu et al 1991). Dentro de los factores más importantes causantes de epilepsia en la adolescencia en mujeres se debe a los cambios endócrinos que suceden en la pubertad, la menstruación y el embarazo. En México existen organizaciones gubernamentales encargadas de la atención de la Epilepsia como:

- Capítulo Mexicano de la Liga Internacional Contra la Epilepsia (CAMELICE)
- El Plan de Acción Contra la Epilepsia (PACE), creado en 1984 y que cuenta con un Programa Prioritario de Epilepsia (PPE).
- Centros de Atención Integral de la Epilepsia (CAIE).

El PPE cuenta con los lineamientos y normas para el diagnóstico, estudio, tratamiento y rehabilitación de las personas que padecen epilepsia. En el 2005 se lleva a cabo el Consenso Nacional sobre Nuevos Tratamientos en el manejo de epilepsia, en el cual se considera la definición de epilepsia como “Una afección cerebral caracterizada por una predisposición duradera o permanente que genera crisis epilépticas, con consecuencias neurobiológicas, cognoscitivas o psicosociales (GlaxoSmithKline, 2005).

El término “crisis epiléptica” se considera como la aparición transitoria de síntomas y signos secundarios a la actividad anormal excesiva o sincrónica neuronal del cerebro (SSA, 1999). Se estima que en México de 11 a 20 personas por cada 1,000 habitantes padecen epilepsia, por lo que se tiene que aproximadamente dos millones de mexicanos padecen esta enfermedad, en donde casi el 80% de los pacientes presentaron su primera crisis epiléptica antes de la adolescencia (SSA, 1999).

El tratamiento médico de la epilepsia, incluyendo el preventivo, está orientado a reducir los factores que favorecen las crisis epilépticas, el fármaco se escoge en base a diferentes criterios, entre los que destacan (GlaxoSmithKline, 2005):

- Diagnóstico preciso de las crisis o síndrome epiléptico.
- Mecanismo de acción.
- Eficacia, tolerancia, efectos secundarios (idiosincráticos).
- Costos y facilidad de administración.

Los Medicamentos antiepilépticos (MAE), se clasifican en dos grupos: los tradicionales que llevan más de 40 años de ser empleados en la clínica (fenobarbital, diacepam, carbamacepina, fenitoína, entre otros) y los de nueva generación que son aquellos fármacos que se han desarrollado en los últimos 10 años (gabapentina, oxacarbacepina, lamotrignina, entre otros).

Al igual que por su mecanismo de acción los MAE se pueden clasificar en tres grupos principales:

- 1) Fármacos que favorecen los mecanismo inhibitorios, como los compuestos del sistema GABAérgico: los inhibidores de GABA transaminasa, los que aumentan la recaptura de GABA en la sinapsis, que actúan sobre los receptores de GABA, permitiendo la apertura de canal de cloro incitando la hiperpolarización neuronal, por lo que induce la inhibición.
- 2) Fármacos que tienen efecto sobre los receptores relacionados con glutamato, particularmente el NMDA (N-metil-D-aspartato), que actúan bloqueando los mecanismos excitatorios.
- 3) Los fármacos que estabilizan los canales iónicos, como los bloqueadores de canales de calcio y de sodio (como por ejemplo la fenitoína, oxacarbacepina, lamotrignina).

TABLA 4. Principales medicamentos antiepilépticos, indicación clínica y efectos secundarios

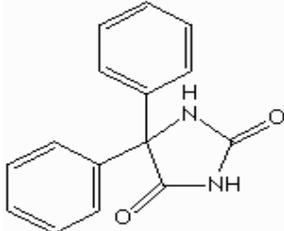
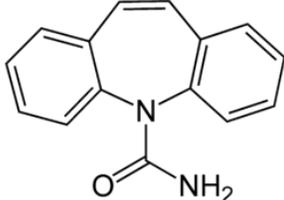
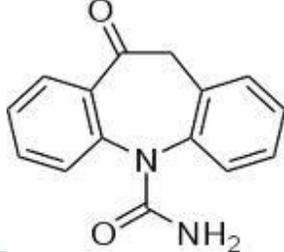
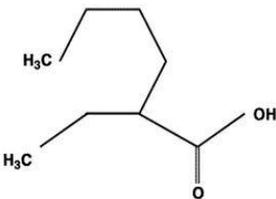
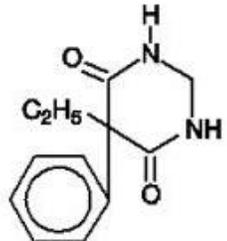
Indicación clínica (crisis)	Fármacos	Efectos secundarios	Molécula
Parcial simple	FENITOINA	Reacciones cutáneas, mareos, nistagmus.	
Parcial compleja	CARBAMAZEPINA (mecanismo de acción canales de Na ⁺)	Reacciones cutáneas, somnolencia, mareo	
Parcial simple o compleja	OXCARBAZEPINA (mecanismo de acción canales de Na ⁺)	Reacciones cutáneas, somnolencia	
con generalización secundaria	VALPROATO (a)(b) (mecanismo de acción canales Na ⁺)	Irritación gástrica	
	PRIMIDONA	Hipersomnolia, mareo, hiperactividad (niños).	

TABLA 4.1 Principales medicamentos antiepilépticos, indicación clínica y efectos secundarios

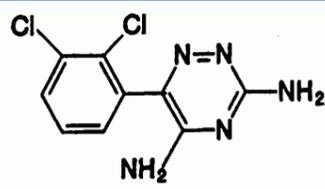
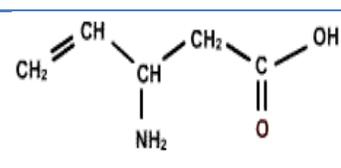
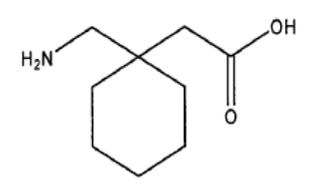
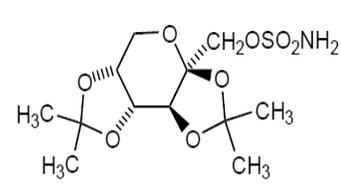
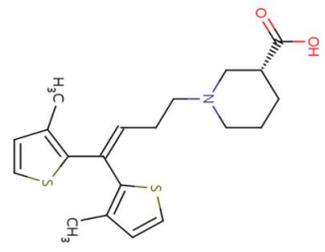
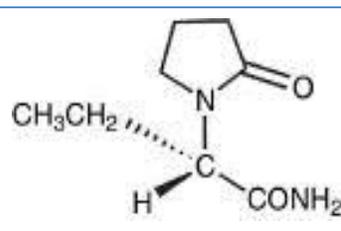
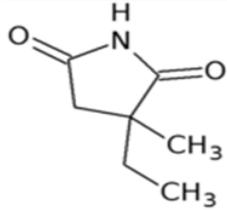
Indicación clínica (crisis)	Fármacos	Efectos secundarios	Molécula
	LAMOTRIGNINA (a)(b) (mecanismo de acción canales Na ⁺)	Reacciones cutáneas	
Parcial simple	VIGABATRINA	Vómito	
Parcial compleja	GABAPENTINA (α2δ subunidad voltaje –dependiente de canales de Ca ⁺⁺)	Somnolencia, temblor	
Parcial simple o compleja con generalización secundaria	TOPIRAMATO (mecanismo de acción canales Na ⁺)	Pérdida de peso	
	TIAGABINA	Ataxia, mareo, temblor	
	LEVETIRACETAM	Astenia, cefalea, somnolencia	

TABLA 4.2 Principales medicamentos antiepilépticos, indicación clínica y efectos secundarios

Indicación clínica (crisis)	Fármacos	Efectos secundarios	Molécula
Generalizada no convulsiva o ausencia ^(a)	ETOSUCCIMIDA	Somnolencia, irritación gástrica	
Generalizada, convulsiva y no convulsiva o ausencia Mioclónica ^(b)	CLONAZEPAN (mecanismo de acción conductancia al Cl ⁻)	Somnolencia	

4.4 LA EPILEPSIA Y EL TRASTORNO DEL SENTIDO DEL OLFATO

Los órganos sensoriales están conformados de células que poseen receptores especializados en captar estímulos externos y convertirlos en una señal eléctrica que se transmite por las vías específicas al SNC (Ley de Muller, de las energías específicas). La transformación de una señal: química, mecánica o térmica, en una señal eléctrica ocurre en el receptor sensorial, el cuál directa o a través de segundos mensajeros favorece la apertura de un canal iónico para despolarizar o hiperpolarizar la membrana de la célula postsináptica.

En el caso del sistema olfatorio, el estímulo generalmente de naturaleza química, se une al receptor, localizado en la membrana de los cilios de la célula sensorial, y activa a una proteína de la familia de las proteínas G (G_{olf} , proteína G específica del epitelio olfatorio) para favorecer la apertura de canales iónicos y la despolarización consecuente de la membrana del receptor, la transducción química ocurre en neuronas especializadas que forman parte del epitelio olfatorio en células granulares y célula mitral (Tercel et al, 2005).

Se genera así un potencial generador o de receptor, que si alcanza el nivel de disparo del nervio olfatorio, se propagará la señal hasta alcanzar la corteza olfatoria (Tercel et al, 2005)

En el sistema olfatorio existen cientos de receptores que captan miles de olores diferentes, debido a que cada aroma posee una afinidad diferente por un conjunto de receptores que dan su identidad específica con gran precisión. Durante la aparición de crisis epilépticas parciales se presentan las crisis con semiología sensitiva sensorial que traducen el desarrollo de la descarga epiléptica en sectores destinados a la recepción de los mensajes sensoriales, es decir, que pueden existir variedades de experiencias sensoriales.

El foco epiléptico puede resultar de condiciones patológicas diferentes (traumas, lesiones vasculares, neoplasias, infecciones, cuerpos extraños y atrofia del cerebro) o debido a causas metabólicas y nutricionales como son la hipoglucemia, desequilibrio de electrolitos y deficiencia de vitaminas como la B₆.

Las crisis olfatorias se hallan constituidas por sensaciones sin objeto denominadas parosmia. Parosmia es una confusión de olores que indica presencia de lesión del lóbulo temporal, y produce psicosis e histeria en donde el sujeto se halla generalmente en la imposibilidad de identificar los olores, aunque habitualmente le atribuye un carácter desagradable durante la presencia de un episodio epiléptico. Las alucinaciones olfatorias son la percepción de olores sin que exista estímulo externo oloroso, indica lesión del HIP (lóbulo temporal), crisis parciales o focales de origen epiléptico (crisis uncinadas). Estas crisis resultan de la descarga de la extremidad anterosuperior del uncus, estas afecciones nasales causan disminución o pérdida del olfato, que puede ser bilateral (más frecuente) o unilateral.

Las lesiones intracraneales casi nunca producen alteraciones olfativas al menos que las cintillas olfatorias estén afectadas y genere la lesión una anosmia unilateral (afección de las fosas nasales).

4.5 MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA

Existe una limitación natural del estudio de la epilepsia en humanos debido a que son técnicas invasivas o ensayos farmacológicos que alteran la estabilidad del individuo, por lo que se ha creado la necesidad de buscar modelos experimentales que semejen la epilepsia humana.

Este tipo de estudios poseen aplicaciones fundamentales como son (Guillemain et al, 2012):

- Estudio de mecanismos neuronales, que se relacionan con la regularización de la excitabilidad del sistema nervioso central y regulación de la actividad motora.
- Mecanismos neuronales básicos en la generación y/o autosupresión de las crisis epilépticas, sean o no convulsivas.
- Estudios clínicos de fármacos anticonvulsivantes.

Los criterios a considerar en los modelos experimentales son: inducción de la epilepsia, mecanismos neuronales implicados en su producción y sus manifestaciones conductuales, por lo que un modelo experimental se considera como modelo de epilepsia verdadera cuando las alteraciones paroxísticas son espontáneamente recurrentes. La inducción de epilepsia o de las crisis epileptiformes, se realiza por agentes físicos o químicos. Los primeros pueden afectar los receptores sensoriales, o dañar directamente las áreas encefálicas como en el electrochoque. Los agentes químicos empleados pueden ser: aplicación tópica, administración intravenosa o sistémica, o por supresión de un agente químico o carencia metabólica de otros.

Entre los diferentes modelos de epilepsia que se conocen, el que se realiza con mayor frecuencia es el de la ELT, debido a que la ELT en el ser humano es el tipo más común de epilepsia. Los modelos animales de esta enfermedad se cree que son algunos de los mejores modelos para ayudar a entender el problema de la epileptogénesis y las alteraciones neuronales que tienen lugar en el cerebro después de las convulsiones.

El modelo más conocido y utilizado es el fenómeno de kindling, descubierto por Goddard en los años sesenta. Este modelo consiste en la estimulación repetida y periódica de estructuras del sistema límbico (típicamente de la amígdala, la corteza o el hipocampo), que da lugar a la aparición de crisis epilépticas secundariamente generalizadas en ratas. Este modelo presenta alteraciones anatómicas en el hipocampo similar a las descritas en el ser humano, por lo que se consideraría el modelo mayormente aceptado en el estudio de la ELT, en el cual no existe necesariamente daño morfológico, y se emplea principalmente en la evaluación de fármacos antiepilépticos (Venegas et al, 2004).

El modelo murino actualmente contribuye a comprender la patogénesis de la epilepsia, debido a que proporciona información fiable sobre la fisiopatología y desarrollo sintomático durante el *status epiléptico*, debido a que es una representación simplificada de una enfermedad (Loscher, 1997). En el modelo de estado epiléptico se utilizan diferentes agentes convulsionantes como el ácido kaínico y la pilocarpina que inducen diferentes fases del estado epiléptico. La primera fase es aguda y el estado epiléptico es caracterizado por crisis tonicoclónicas de origen límbico que no ceden. En la segunda fase se interrumpe farmacológicamente el agente convulsivante y se desarrolla un periodo libre de crisis considerada como “fase latente”, seguido de crisis recurrentes espontáneas, dando lugar a la fase crónica.

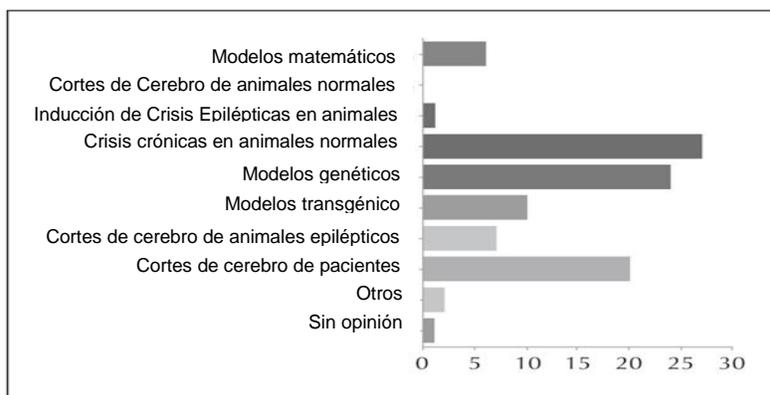


FIGURA10. Tipos de Modelos. Estudio informativo realizado a 36 expertos clínicos de Epilepsia que responden al tipo de modelo que proporciona la información más fiable y relevante acerca de la fisiopatología de la epilepsia. El 75% de los expertos considera como mejor modelo a los animales con convulsiones crónicas, el 67% a modelos genéticos y el 56% tejido cerebral humano. (Guillemain, 2012).

La administración sistémica de este tipo sustancias convulsivantes es un procedimiento empleado en los estudios experimentales de la epilepsia, el cual consiste en administrar el agente convulsivante por vía intraperitoneal, intravenosa o subcutáneo, permitiendo su distribución homogénea a nivel cerebral (Pastor et al, 2006).

La pilocarpina es un alcaloide colinomimético natural de acción directa proveniente del arbusto *Pilocarpus jaborandi*. Tiene como función ser un agonista de los receptores colinérgicos: muscarínicos y nicotínicos.

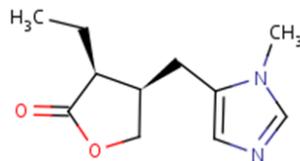


FIGURA 11 Formula química de la Pilocarpina CASRN: 92-13-7

El cloruro de pilocarpina, es una droga parasimpaticomimética, que se caracteriza por estimular las fibras colinérgicas postganglionares y actúa en el mismo punto que la acetilcolina; por lo que estimulan los músculos y glándulas inervadas por el sistema nervioso parasimpaticomimético (Casarett and Doull, 2001; Avedaño, 2004).

Las principales acciones de la pilocarpina se centran en:

- Aparato digestivo: Provoca un aumento del tono y las contracciones de las fibras lisas del esófago, estómago, e intestino, aumentando el peristaltismo y las secreciones de todas las glándulas digestivas
- Vías urinarias: Aumenta el tono del uréter y del músculo detrusor de la vejiga, por lo cual produce micción sin aumentar la diuresis.
- Aparato respiratorio: produce contracción de los bronquiolos por acción sobre las fibras lisas.
- Sistema circulatorio: aumento de la irrigación sanguínea.
- Piel.

El mecanismo principal de la pilocarpina, es la acción directa sobre las células efectoras autónomas, produciendo efectos de: inhibición cardiaca, vasodilatación periférica, contracción de la pupila, aumento de la salivación y secreción glandular, contracciones y acción peristáltica de los tractos gastrointestinal y urinario (Avedaño, 2004).

Su administración puede combinarse con litio, o ser administrado solo, cuando se administra sistémicamente, la pilocarpina tiene una vida media de entre 1 y 2 horas (sin embargo aún no se conoce claramente sus mecanismos de eliminación), y produce cambios electroencefálicos que se pueden dividir en tres periodos (Calvalheiro 1995, Arida et al. 1999):

1. Periodos cortos, con desarrollo progresivo del SE en el sistema límbico.
2. Periodo de latencia con normalización progresiva del EEG y periodos variables de 4 a 44 días.
3. Periodo crónico, con convulsiones recurrentes espontáneas.

Se cree que la inactivación metabólica de la pilocarpina ocurre en las sinapsis neuronales y en el plasma. Tanto la pilocarpina como sus productos de degradación se excretan en la orina.

5. HIPÓTESIS

Los cambios en las concentraciones de los neurotransmisores excitatorios e inhibitorios (aspartato, glutamato, glicina y GABA) observados en el hipocampo durante el *status epileptico* también podrían ser observados en el bulbo olfatorio debido a que en pacientes con epilepsia se presenta déficit olfatorio.

6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el perfil de liberación de los aminoácidos en dos estructuras del sistema nervioso central: hipocampo y bulbo olfatorio, después del *Status Epiléptico* inducido con pilocarpina, en un modelo murino.

7. OBEJTIVOS PARTICULARES

1. Evaluar los cambios en la concentración de los aminoácidos excitatorios e inhibitorios en hipocampo, bulbo olfatorio y plasma.
2. Evaluar los cambios en la concentración de los aminoácidos esenciales y no esenciales en hipocampo, bulbo olfatorio y plasma.
3. Comparar los cambios de concentración de los aminoácidos que actúan como neurotransmisores a nivel del sistema nervioso central.

8. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud aproximadamente 0.8% de la población mundial presenta epilepsia (50 millones de personas). Existen diferentes estudios que sugieren que las alteraciones en la concentración de aminoácidos en hipocampo y plasma se pueden asociar con la presencia de diferentes trastornos neurológicos como la epilepsia. Se ha observado que las personas con este padecimiento presentan déficit olfatorio, por lo que se podría observar cambios en las concentraciones de aminoácidos en bulbo olfatorio como se ha observado en hipocampo y plasma.

El presente trabajo experimental tiene como objetivo evaluar los cambios en la concentración de los aminoácidos excitatorios e inhibitorios así como de los aminoácidos esenciales y no esenciales en hipocampo, bulbo olfatorio y plasma; y comparar el cambio de la concentración de los aminoácidos en función del *status epiléptico* a nivel del sistema nervioso central.

9. METODOLOGÍA

Se empleó el modelo murino de ELT con ratas macho de la cepa Wistar induciendo el SE con pilocarpina, la cual se administró por vía i.p, para determinar el efecto que se presenta sobre la concentración de 18 aminoácidos que se enlistan en la tabla 5.

TABLA 5. Aminoácidos analizados en el modelo murino de ELT.

Aminoácidos esenciales	Aminoácidos NO esenciales
Histidina	L-Aspartato
L-Treonina	L-Glutamato
L-Arginina	L-Asparagina
L-Valina	L-Serina
L-Metionina	L-Glutamina
L-Triptófano	Glicina
L-Fenilalanina	L-Citrulina*
L-Isoleucina	GABA*
L-Leucina	L-Tirosina

*Aminoácido No proteico

En esta tabla se puede observar que los aminoácidos de mayor interés (glutamato, aspartato, glicina y GABA) son aminoácidos no esenciales.

El modelo murino empleado para la inducción del *status epileptico* en fase aguda en ratas macho de la cepa Wistar fue el de cloruro de litio-pilocarpina. En este modelo las ratas son pretratadas con cloruro de litio en dosis de 3mEq/ Kg administrado por vía i.p 24 horas antes de administrar pilocarpina (30 mg/Kg), este pretratamiento potencia el efecto de la pilocarpina en dosis bajas. Generalmente las dosis de éste agente químico son de 300-400 mg/Kg, lo cual es considerada una dosis alta.

Se definieron los grupos de estudio de acuerdo al siguiente esquema:

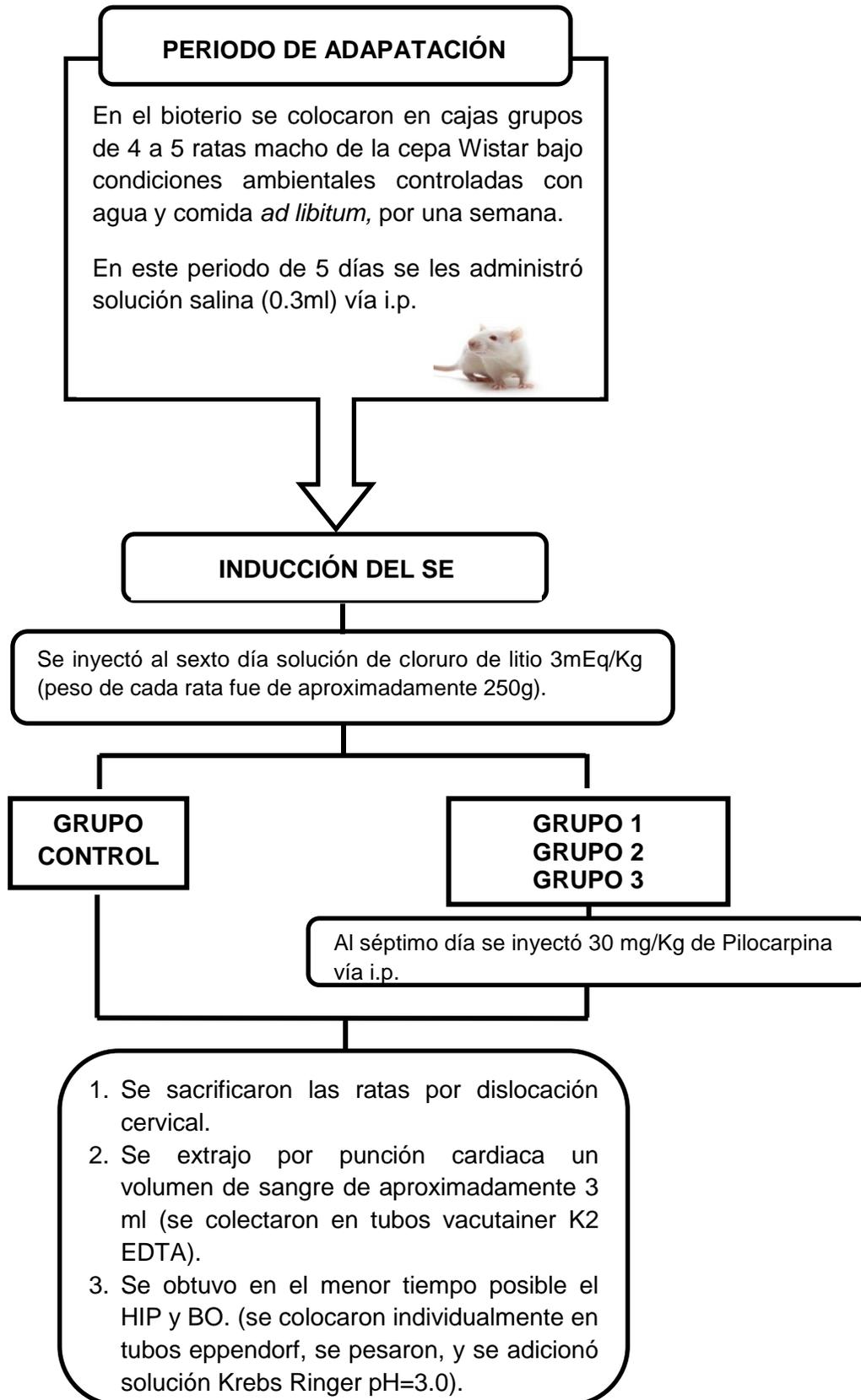
GRUPO	SOLUCIONES INYECTADAS (vía i.p.)
Control	Solución salina + Cloruro de Litio (3mEq LiCl/kg)
Grupo 1 (1 hora posterior al SE)	Solución salina + Cloruro de Litio (3mEq LiCl/kg) + Pilocarpina (30mg/Kg)
Grupo 2 (2 hora posterior al SE)	Solución salina + Cloruro de Litio (3mEq LiCl/kg) + Pilocarpina (30mg/Kg)
Grupo 3 (4 hora posterior al SE)	Solución salina + Cloruro de Litio (3mEq LiCl/kg) + Pilocarpina (30mg/Kg)

En este modelo experimental en fase aguda de ELT se verificaron los cambios conductuales generados por el agente convulsivante litio-pilocarpina:

- 5-10 minutos: Piloerección, erguimiento de las orejas, temblor, salivación y diuresis.
- 15-20 minutos: Movimientos de cabeza, guiño, salivación, sacudidas de perro mojado, clonus de miembros anteriores, posición de canguro y pérdida de la postura corporal (crisis límbicas).
- > 20 minutos: *status epiléptico* (crisis límbicas repetidas).

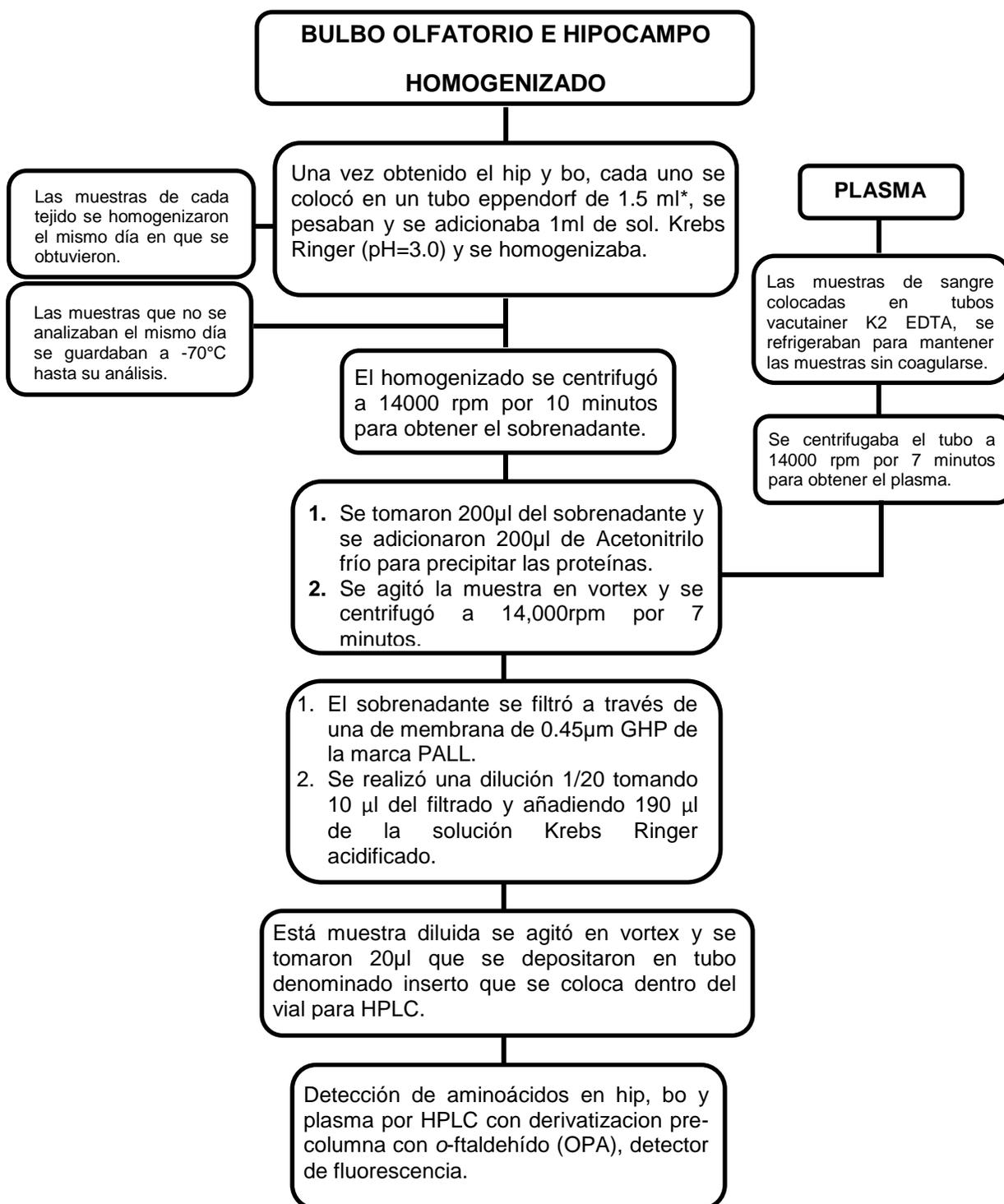
En el diagrama 1 se presenta el esquema de trabajo que se siguió para obtener las muestras de hipocampo, bulbo olfatorio y plasma en el grupo control y los grupos 1, 2 y 3; a los cuales se les realizó su respectivo tratamiento de muestras para analizarlas posteriormente en el equipo HPLC.

Diagrama 1



9.1. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS (BULBO OLFATORIO, HIPOCAMPO Y PLASMA)

Diagrama 2



*Se realizaba previamente la tara a los tubos eppendorf para obtener el peso directo del bo e hip.

9.2. CONDICIONES DEL SISTEMA DE HPLC

El procedimiento para el análisis de aminoácidos por el sistema HPLC vía derivatización, se realizó bajo las condiciones y método establecido en el laboratorio de Análisis Sensorial del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina bajo el cargo de la Doctora Rosalinda Guevara Guzmán (Arciniega, 2009; Henderson, 2000).

El equipo HPLC que fue utilizado es de la marca Agilent, modelo 1100 (Agilent Technologies), con detector de fluorescencia. La columna utilizada fue de la marca Agilent Zorbax Eclipse C18 AAA con dimensiones de (150 x 3.0) mm x 3.5µm de fase reversa (fase móvil A es polar, y la fase móvil B es no polar); la temperatura de trabajo de la columna es de 40°C. El flujo utilizado fue de 1.0mL/min y la aceleración de la bomba fue de 100.0 mL/min².

Para la generación del gradiente se emplearon dos fases, la fase acuosa compuesta de fosfato de sodio dibásico (Na₂HPO₄), ajustada con ácido fosfórico (H₃PO₄) a pH de 7.8, y la fase orgánica compuesta de acetonitrilo: metanol: agua en una proporción (40:45:10).

Los aminoácidos fueron detectados por la reacción del grupo amino primario de los aminoácidos con el OPA en medio acuoso con pH alcalino y en presencia de un agente reductor que es el 2-mercapto-etanol. Se programó el detector de fluorescencia para excitar a una longitud de onda de 340nm y medir la energía emitida por los compuestos fluorescentes a 450nm.

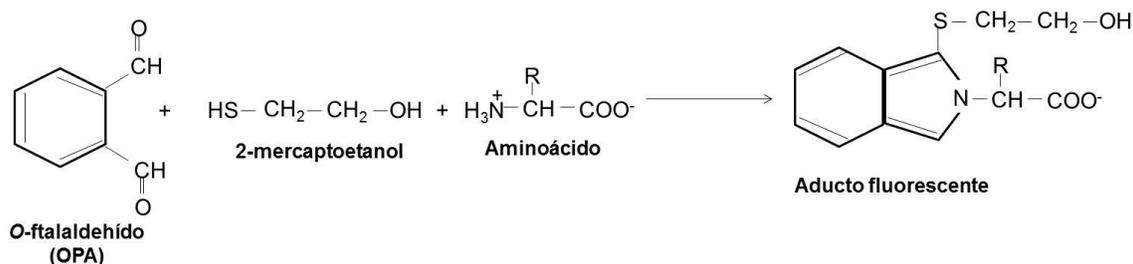


FIGURA 10. Reacción de derivatización pre-columna de aminoácidos con o-ftalaldehído (OPA). Los aminoácidos reaccionan con el reactivo OPA en presencia de un reductor fuerte (2-mercaptoetanol) y condiciones alcalinas (pH 9 -11) para originar derivados isindólicos fluoróforos.

Los componentes que conforman el sistema HPCL con detector de fluorescencia se encuentran en el siguiente esquema:

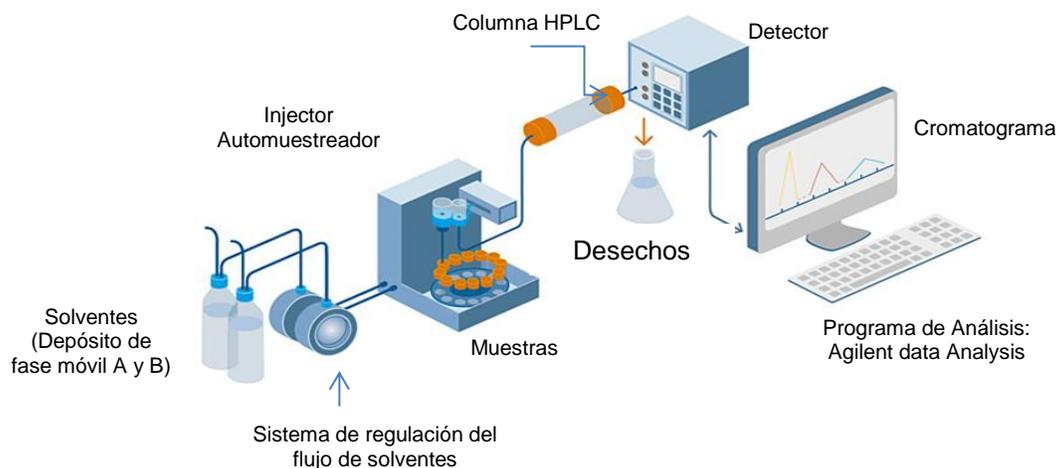


FIGURA 11. Operación sistemática del equipo HPLC. La fase móvil típica empleada para las columnas C-18 son Agua-Acetonitrilo. En la secuencia de inyección se incluían: 3 blancos, estándar inicial, intermedio y final, y un control interno.

Para la cuantificación de las concentraciones de los aminoácidos, se realizó la interpolación de los resultados obtenidos (áreas de los picos de cada aminoácido) en los cromatogramas en una curva de calibración (método del estándar externo). Se verificó que el intervalo de cuantificación de cada aminoácido en la curva de calibración se obtuviera un coeficiente de correlación de aproximadamente 0.999.

10. RESULTADOS

Las ratas Wistar utilizadas para éste estudio presentaron los efectos convulsivantes de la administración de cloruro de litio-pilocarpina en un tiempo aproximado a 20 minutos después de su administración. En esta fase aguda los cambios conductuales presentados de manera general en las ratas fueron: piloerección, salivación, posición de canguro y sacudidas de cuerpo (denominadas sacudidas de perro mojado).

El análisis estadístico fue llevado a cabo mediante el programa estadístico SPSS 15.0 para Windows. Se realizaron dos pruebas estadísticas a los datos obtenidos, para verificar que siguieran una distribución normal se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($p < 0.05$), y la prueba de Levene para evaluar homogeneidad de varianzas ($p < 0.05$). En ambos casos los resultados presentaron un valor aproximadamente mayor o igual a 0.05 por lo que nuestros resultados siguen una distribución normal y se pueden realizar pruebas estadísticas paramétricas.

De acuerdo a lo anterior se realizó un análisis estadístico ANOVA (post Hoc Tukey) de un factor debido a que sólo se evaluó el cambio de la concentración de cada aminoácido con respecto al tiempo, y así poder verificar si existe diferencia significativa de cada grupo (1,2,3) con respecto al grupo control y entre los grupos.

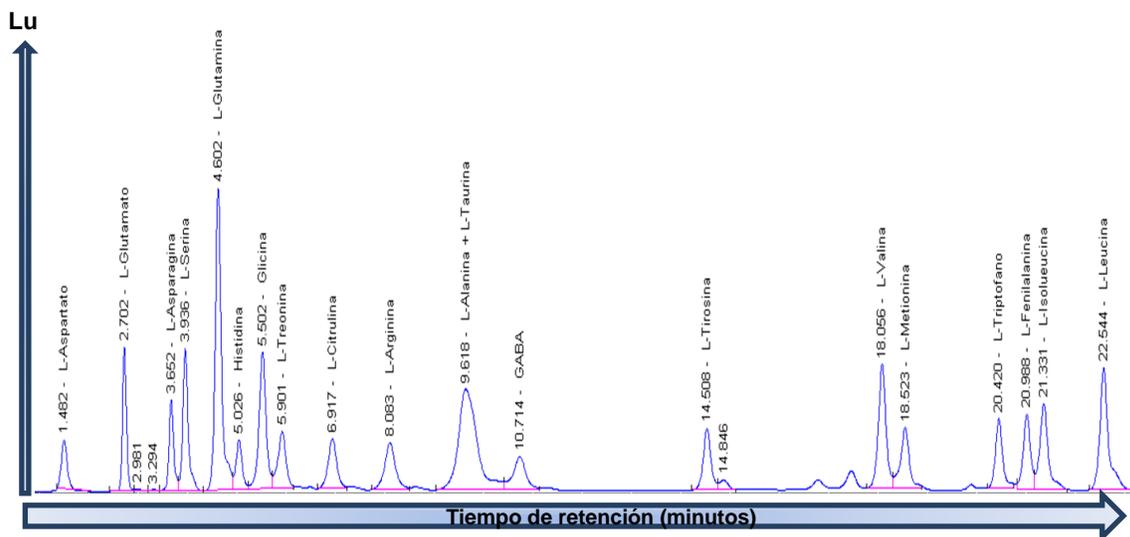
Se realizó la prueba de t de student para comparar el valor de la media poblacional de la concentración obtenida de los aminoácidos aspartato, glutamato, glicina y GABA en BO e HIP con un nivel de confianza del 95% de los grupos de estudio y así determinar estadísticamente si los valores obtenidos en la concentración de éstos aminoácidos son iguales, es decir, si presentan el mismo comportamiento HIP y BO en cuanto al aumento o disminución en la concentración de cada uno de los aminoácidos antes mencionados en el modelo de ELT.

Por lo que se plantearon dos hipótesis:

H₀: El valor de las medias son iguales, es decir si las concentraciones en hipocampo-bulbo olfatorio en función del SE de los aminoácidos glutamato, aspartato, glicina y GABA son iguales (grupo control, grupo1, 2 y3).

H₁: El valor de las medias son diferentes, es decir si las concentraciones en hipocampo-bulbo olfatorio en función del SE de los aminoácidos glutamato, aspartato, glicina y GABA NO son iguales (grupo control, grupo1, 2 y3). Bajo este planteamiento de hipótesis se encontró que estadísticamente en el grupo 1(1 hora de SE) el aminoácido glutamato presenta el mismo cambio de concentración en hipocampo y en el bulbo olfatorio.

En el cromatograma 1 se muestra la representación típica de la señal que se obtiene en un análisis de aminoácidos por HPLC con detector de fluorescencia. En él se observa que al tiempo de retención (TR) de 9.618 minutos no se separan la L-alanina y L-aurina (se encuentran sobrelapados), por lo que éstos aminoácidos no se pueden considerar en el análisis. También se observan los TR que presenta cada uno de los 18 aminoácidos evaluados y la señal de luminiscencia (Lu) que emite cada uno, estas áreas son las que se interpolan en la curva de calibración para obtener los resultados experimentales.



CROMATOGRAMA 1. Cromatograma de un estándar inicial inyectado durante la secuencia de inyección en un análisis de rutina.

10.1. RESULTADOS EN BULBO OLFATORIO, HIPOCAMPO Y PLASMA

En la tabla 6, 7 y 8 se muestran los resultados obtenidos (después del SE) de la concentración de aminoácidos en las muestras de HIP, BO y plasma: grupo control, grupo 1(1 h SE), 2 (2 h SE) y 3 (4 h SE). Los datos se expresan como el valor de la media \pm error estándar de la media (SEM), $p < 0.05$ y $p < 0.01$ considera estadísticamente el nivel de significancia (nivel de confianza del 95% y 99%).

En la tabla 6 se observa que los aminoácidos esenciales (a excepción del triptófano), presentaron una disminución en su concentración después de los primeros 60 minutos de SE, a las 2 y 4 horas aumentaron su concentración sin llegar a la concentración inicial del grupo control.

La concentración más baja de los aminoácidos encontrada en hipocampo fue la del triptófano, la cual aumento en los grupos con SE. A diferencia de los aminoácidos esenciales, los aminoácidos no esenciales como el aspartato, asparagina, serina, glicina y citrulina, en el grupo 3 presentaron un aumento en su concentración mayor a la del grupo control, mientras que la concentración de los aminoácidos: glutamato, glutamina y GABA aumentó significativamente en función del tiempo de SE.

TABLA 6 Concentración de aminoácidos en homogenizado de Hipocampo (Media \pm SEM)

Concentración de Aminoácidos en Hipocampo [nM/mg tejido]				
Aminoácidos	CONTROL n=5	GRUPO 1 n=6	GRUPO 2 n=5	GRUPO 3 n=7
Aminoácidos esenciales				
Histidina	1.19 \pm 0.07	0.12 \pm 0.01 [■]	0.19 \pm 0.01 [■]	0.26 \pm 0.00 [■] ♣
L-Treonina	1.21 \pm 0.06	0.50 \pm 0.04 [■]	0.96 \pm 0.13 [●]	0.90 \pm 0.01 [■] ♣
L-Arginina	1.02 \pm 0.09	0.27 \pm 0.02 [■]	0.36 \pm 0.02 [■]	0.51 \pm 0.01 [■] ♣
L-Valina	0.52 \pm 0.03	0.22 \pm 0.01 [■]	0.28 \pm 0.01 [■]	0.39 \pm 0.01 [■] ♣
L-Metionina	0.36 \pm 0.01	0.14 \pm 0.01 [■]	0.20 \pm 0.02 [■] ●	0.24 \pm 0.00 [■] ♣
L-Triptófano	0.05 \pm 0.01	0.05 \pm 0.00	0.07 \pm 0.00 [●]	0.08 \pm 0.00 [■] ♣
L-Fenilalanina	0.58 \pm 0.03	0.16 \pm 0.01 [■]	0.26 \pm 0.00 [■] ●	0.30 \pm 0.00 [■] ♣
L-Isoleucina	0.16 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01 [■]	0.14 \pm 0.01 [●]	0.19 \pm 0.01 [♣] ♦
L-Leucina	0.99 \pm 0.05	0.24 \pm 0.02 [■]	0.37 \pm 0.01 [■] ●	0.48 \pm 0.01 [■] ♣ ♦
Aminoácidos NO esenciales				
L-Aspartato	1.97 \pm 0.08	1.58 \pm 0.12 [■]	2.27 \pm 0.07 [●]	2.85 \pm 0.05 [■] ♣ ♦
L-Glutamato	7.24 \pm 0.61	7.80 \pm 0.97	9.92 \pm 0.34 [■]	> 11.00 [■] ♣
L-Asparagina	1.43 \pm 0.07	1.07 \pm 0.08 [■]	1.55 \pm 0.06 [●]	1.58 \pm 0.03 [♣]
L-Serina	1.33 \pm 0.06	0.93 \pm 0.07 [■]	1.32 \pm 0.04 [●]	1.76 \pm 0.02 [■] ♣ ♦
L-Glutamina	2.15 \pm 0.10	4.59 \pm 0.38 [■]	6.54 \pm 0.20 [■] ●	6.49 \pm 0.13 [■] ♣
Glicina	1.29 \pm 0.06	0.88 \pm 0.06 [■]	1.17 \pm 0.08 [●]	1.59 \pm 0.02 [■] ♣ ♦
L-Citrulina [®]	0.11 \pm 0.01	0.05 \pm 0.00 [■]	0.14 \pm 0.02 [●]	0.11 \pm 0.00 [♣]
GABA [®]	1.57 \pm 0.06	2.54 \pm 0.19 [■]	3.65 \pm 0.09 [■] ●	4.26 \pm 0.09 [■] ♣ ♦
L-Tirosina	0.44 \pm 0.01	0.17 \pm 0.01 [■]	0.24 \pm 0.00 [■] ●	0.29 \pm 0.01 [■] ♣ ♦

■Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; ● Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; ● para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. [®] Aminoácido no proteico.

En la tabla 7 se observa que a diferencia del hipocampo la mayoría de los aminoácidos presentan una tendencia ascendente en su concentración conforme al tiempo de SE, a excepción de los aminoácidos esenciales como arginina, valina, fenilalanina, isoleucina, leucina, y los aminoácidos no esenciales como aspartato, glutamato (neurotransmisores excitatorios) y serina los cuales presentan una ligera disminución en su concentración en el grupo 2 y que aumenta en el grupo 3. Sin embargo en ninguno de los casos la concentración es menor a la concentración obtenida en el grupo control.

TABLA 7 Concentración de aminoácidos en homogenizado de Bulbo olfatorio (Media \pm SEM)

Concentración de Aminoácidos en Bulbo olfatorio [nM/mg tejido]				
Aminoácidos	CONTROL n=7	GRUPO 1 n=5	GRUPO 2 n=5	GRUPO 3 n=5
Aminoácidos esenciales				
Histidina	0.11 \pm 0.01	0.13 \pm 0.02	0.14 \pm 0.02	0.21 \pm 0.02 ^{▪▪♣♦}
L-Treonina	0.03 \pm 0.00	0.30 \pm 0.03 ^{▪▪}	0.53 \pm 0.01 ^{▪▪••}	0.72 \pm 0.03 ^{▪▪♣♣♦♦}
L-Arginina	0.13 \pm 0.00	0.26 \pm 0.04 ^{▪▪}	0.23 \pm 0.01 [▪]	0.35 \pm 0.02 ^{▪▪♣♦♦}
L-Valina	0.05 \pm 0.00	0.20 \pm 0.02 ^{▪▪}	0.19 \pm 0.01 ^{▪▪}	0.24 \pm 0.01 ^{▪▪}
L-Metionina	0.09 \pm 0.00	0.16 \pm 0.02 ^{▪▪}	0.17 \pm 0.01 ^{▪▪}	0.19 \pm 0.01 ^{▪▪}
L-Triptófano	<0.120	0.46 \pm 0.08 ^{▪▪}	0.55 \pm 0.02 ^{▪▪}	0.51 \pm 0.03 ^{▪▪}
L-Fenilalanina	0.13 \pm 0.01	0.28 \pm 0.03 ^{▪▪}	0.21 \pm 0.01 [▪]	0.27 \pm 0.01 ^{▪▪}
L-Isoleucina	0.05 \pm 0.01	0.12 \pm 0.01 ^{▪▪}	0.08 \pm 0.00 [▪]	0.12 \pm 0.01 ^{▪▪♦}
L-Leucina	0.35 \pm 0.01	0.60 \pm 0.06 ^{▪▪}	0.30 \pm 0.01 ^{••}	0.41 \pm 0.02 ^{♣♣}
Aminoácidos NO esenciales				
L-Aspartato	0.98 \pm 0.04	2.39 \pm 0.29 ^{▪▪}	2.25 \pm 0.08 ^{▪▪}	3.44 \pm 0.20 ^{▪▪♣♣♦♦}
L-Glutamato	3.90 \pm 0.13	13.22 \pm 1.44 ^{▪▪}	7.62 \pm 0.69 ^{••}	12.43 \pm 0.96 ^{▪▪♦♦}
L-Asparagina	0.62 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01 ^{▪▪}	1.37 \pm 0.13 ^{▪▪••}	1.39 \pm 0.08 ^{▪▪♣♣}
L-Serina	0.20 \pm 0.01	0.61 \pm 0.06 ^{▪▪}	0.60 \pm 0.03 ^{▪▪}	0.95 \pm 0.07 ^{▪▪♣♣♦♦}
L-Glutamina	1.93 \pm 0.08	4.22 \pm 0.27 ^{▪▪}	5.71 \pm 0.20 ^{▪▪••}	7.61 \pm 0.47 ^{▪▪♣♣♦♦}
Glicina	0.55 \pm 0.01	0.60 \pm 0.04	0.66 \pm 0.06	0.92 \pm 0.08 ^{▪▪♣♣♦}
L-Citrulina [®]	0.01 \pm 0.00	0.05 \pm 0.01 ^{▪▪}	0.08 \pm 0.01 ^{▪▪•}	0.17 \pm 0.01 ^{▪▪♣♣♦♦}
GABA [®]	3.86 \pm 0.19	5.69 \pm 0.49 ^{▪▪}	6.39 \pm 0.27 ^{▪▪}	6.79 \pm 0.48 ^{▪▪}
L-Tirosina	0.07 \pm 0.00	0.20 \pm 0.02 ^{▪▪}	0.18 \pm 0.01 ^{▪▪}	0.23 \pm 0.01 ^{▪▪♦}

▪Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ▪ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. [®] Aminoácido no proteico.

En la tabla 8 se observa que la concentración de GABA en plasma en el grupo 2 y 3 se obtuvo un dato único y por tanto no presenta error estándar, esto debido a que los valores de las áreas en plasma son menores a las áreas que se obtienen en BO e HIP. También se observa que todos los aminoácidos presentan una disminución en su concentración en el grupo 1 o en el grupo 2 (excepto GABA) y que a diferencia del hipocampo y bulbo olfatorio la mayoría de éstos aumentan su concentración por arriba del grupo control en el grupo 3, como por ejemplo el aspartato, glutamato, glutamina y glicina.

TABLA 8 Concentración de aminoácidos en Plasma (Media \pm SEM)

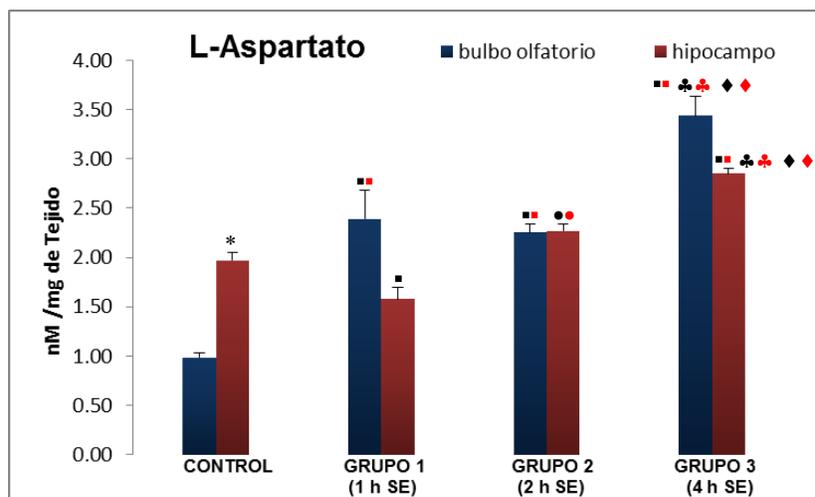
Concentración de Aminoácidos en Plasma [μ M]				
Aminoácidos	CONTROL n=5	GRUPO 1 n=5	GRUPO 2 n=5	GRUPO 3 n=8
Aminoácidos esenciales				
Histidina	52.13 \pm 6.39	36.37 \pm 1.79	42.58 \pm 1.41	64.33 \pm 4.80♣♣♦
L-Treonina	141.55 \pm 6.43	133.22 \pm 2.75	117.48 \pm 6.00♣	145.21 \pm 3.27♦♦
L-Arginina	126.42 \pm 8.40	73.60 \pm 6.11♣♣	66.48 \pm 5.53♣♣	80.62 \pm 5.59♣♣
L-Valina	112.25 \pm 12.81	105.91 \pm 2.05	106.61 \pm 10.35	111.90 \pm 7.00
L-Metionina	76.23 \pm 9.66	49.60 \pm 4.25♣♣	40.66 \pm 1.27♣♣	52.94 \pm 2.04♣
L-Triptófano	80.86 \pm 9.36	87.82 \pm 5.84	73.98 \pm 3.80	81.87 \pm 5.65
L-Fenilalanina	68.71 \pm 7.20	53.03 \pm 1.42	55.32 \pm 2.25	72.31 \pm 5.00♣
L-Isoleucina	81.13 \pm 11.26	55.54 \pm 0.89	48.23 \pm 2.69♣	67.95 \pm 6.18
L-Leucina	137.91 \pm 5.95	125.07 \pm 0.67	116.45 \pm 12.00	134.58 \pm 3.13
Aminoácidos NO esenciales				
L-Aspartato	13.51 \pm 2.58	8.12 \pm 3.43	5.63 \pm 1.67	15.38 \pm 2.28
L-Glutamato	107.40 \pm 11.82	117.18 \pm 14.24	96.25 \pm 15.25	140.57 \pm 6.71♦
L-Asparagina	53.69 \pm 5.42	33.43 \pm 1.87♣	35.89 \pm 4.41♣	44.33 \pm 3.27
L-Serina	146.19 \pm 6.54	116.79 \pm 5.92♣	130.70 \pm 8.11	145.12 \pm 4.42♣
L-Glutamina	160.04 \pm 2.49	154.11 \pm 0.30	155.58 \pm 2.35	161.48 \pm 1.28♣
Glicina	151.61 \pm 1.00	148.29 \pm 0.27♣♣	149.56 \pm 0.25	152.37 \pm 0.45♣♣♦♦
L-Citrulina [Ⓢ]	54.00 \pm 5.23	33.50 \pm 2.01♣♣	44.10 \pm 1.45	44.55 \pm 1.87♣
GABA [Ⓢ]	<0.007	ND	0.67♣♣	0.93♣♣♦♦
L-Tirosina	68.49 \pm 11.35	60.58 \pm 3.18	44.80 \pm 2.58	66.11 \pm 8.89

♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. Ⓢ Aminoácido no proteico.

10.2. GRÁFICAS DE LA CONCENTRACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN BULBO OLFATORIO, HIPOCAMPO Y PLASMA

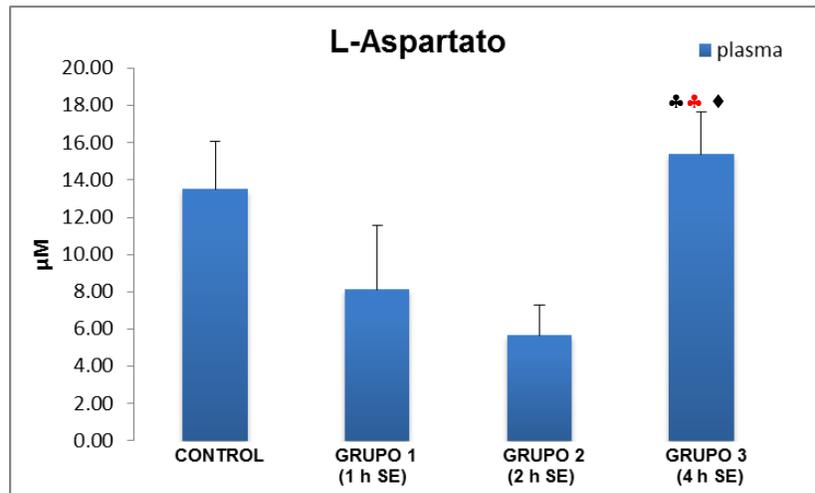
En las siguientes gráficas se muestran los cambios en la concentración de los aminoácidos considerados excitatorios e inhibitorios en BO, HIP y plasma en el modelo de ELT (grupo control, grupo 1, grupo 2 y grupo 3) después del SE. La concentración de GABA en plasma no se gráfica debido a que en el grupo 1 no se obtuvieron datos cuantitativos y en el grupo 2 y 3 se obtuvo un dato único en cada grupo.

En la gráfica 1 se observa que en condiciones normales (grupo control) la concentración de aspartato es mayor en el HIP que en el BO; ambos tejidos presentan cambios en la concentración de aspartato en condiciones de SE, presentándose en el grupo 3 el mayor aumento en la concentración de éste aminoácido excitatorio en BO e HIP.



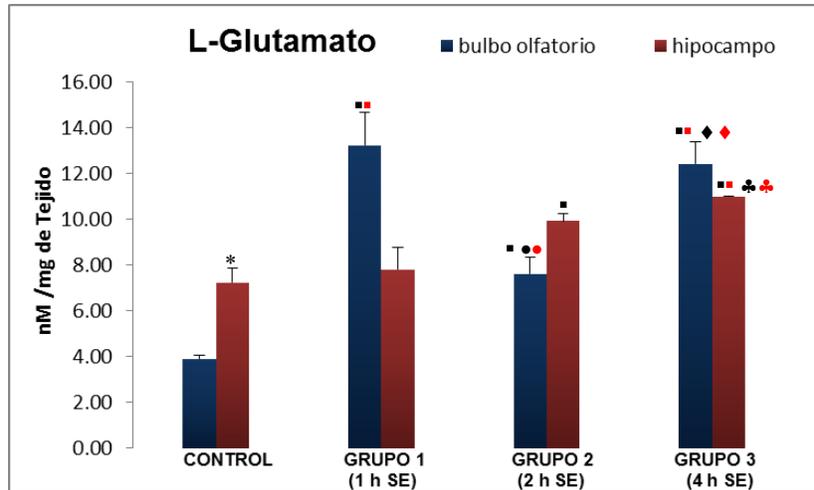
GRÁFICA 1. Respuesta de la concentración del aminoácido aspartato después del SE en BO e HIP (Media \pm SEM), ■Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ● para una $p < 0.01$; ♣ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; ● para una $p < 0.01$; ♠ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♠ para una $p < 0.01$; ♦ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ◆ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.

En gráfica 2 se observa que en plasma se presenta el mismo comportamiento que en HIP en el grupo 1, y BO en el grupo 2, en cuanto a una disminución en la concentración de aspartato; mientras que a las 4 horas después del SE la concentración de aspartato aumenta y es mayor al grupo control.



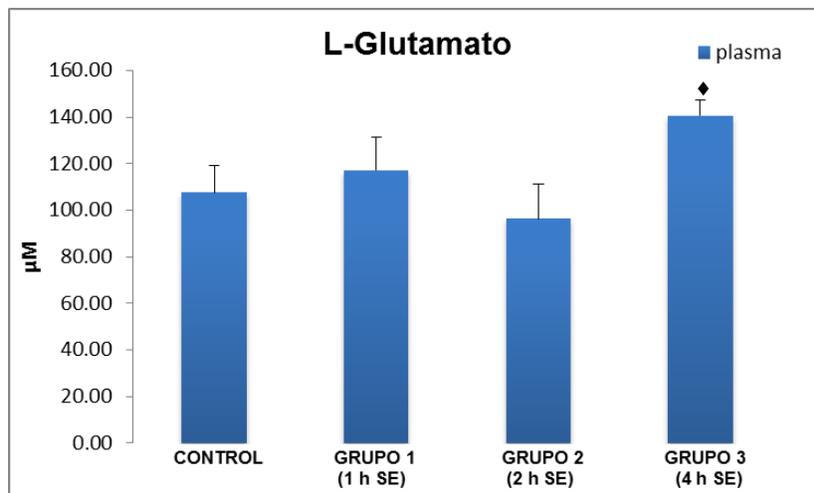
GRÁFICA 2. Respuesta de la concentración del aminoácido aspartato después del SE en plasma (Media \pm SEM). •Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ♠ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; ♠ para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♠ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♠ para una $p < 0.01$. h: horas.

En la gráfica 3 se observa que la concentración de glutamato es mayor en el HIP que en el BO en el grupo control. De acuerdo a la gráfica se observa que el efecto de éste aminoácido es mayor en BO que en HIP en los primeros 60 minutos con SE, mientras que en hipocampo el aumento de la concentración de glutamato es constante. De acuerdo al análisis estadístico t de student al comparar las concentraciones del grupo 1 en BO e HIP, encontramos con un nivel de confianza del 95% que las concentraciones son iguales, es decir, se presentan el mismo comportamiento de cambio de concentración de glutamato después de 1 hora con SE.



GRÁFICA 3. Respuesta de la concentración del aminoácido glutamato después del SE en BO e HIP (Media \pm SEM). ■Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.

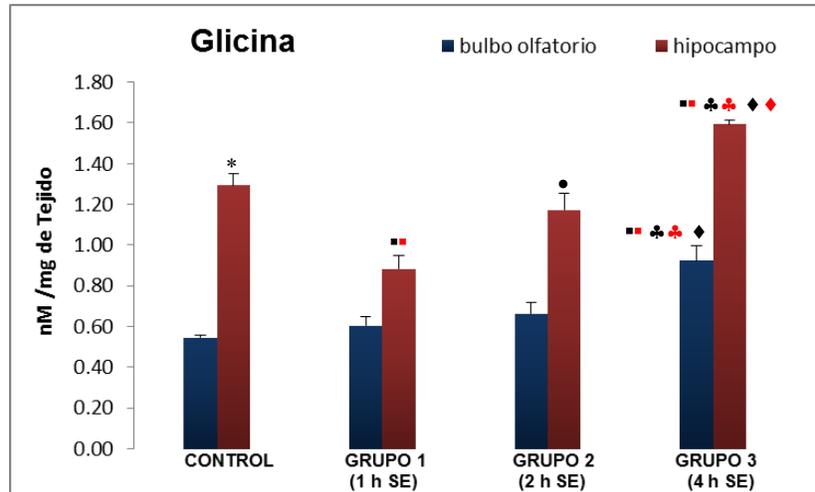
En la gráfica 4 se muestra que en plasma se presentan cambios en la concentración de glutamato semejante al que presenta el BO, a excepción de que en el grupo 1 no se presenta el máximo aumento de su concentración.



GRÁFICA 4. Respuesta de la concentración del aminoácido glutamato después del SE en plasma (Media \pm SEM). ■Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. h: horas.

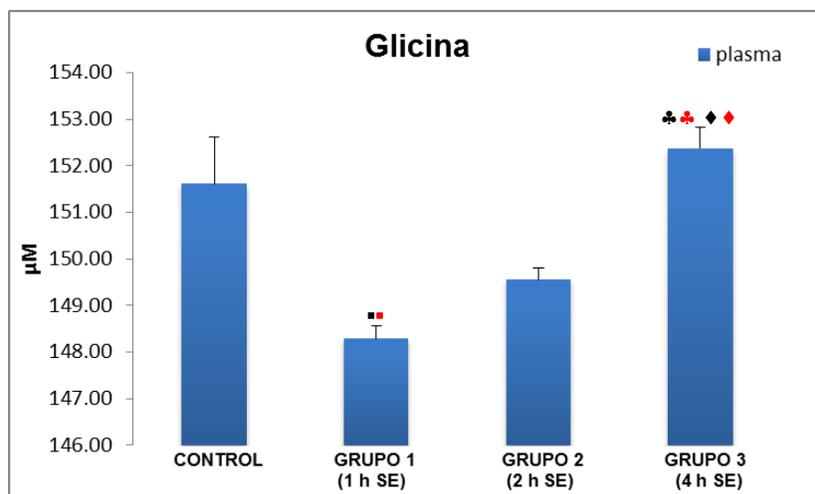
En la gráfica 5 se muestra el efecto del SE sobre la concentración de la glicina (neurotransmisor inhibitorio).

Se observa que la concentración de éste aminoácido es mayor en todos los grupos en HIP aun cuando se presenta una disminución en la concentración de glicina en el grupo 1, y aumenta significativamente en el grupo 3. En BO se observa que la concentración de glicina aumenta constantemente. Al igual que en los aminoácidos aspartato y glutamato (neurotransmisores excitatorios) la glicina en el grupo 3 presenta su máxima concentración.



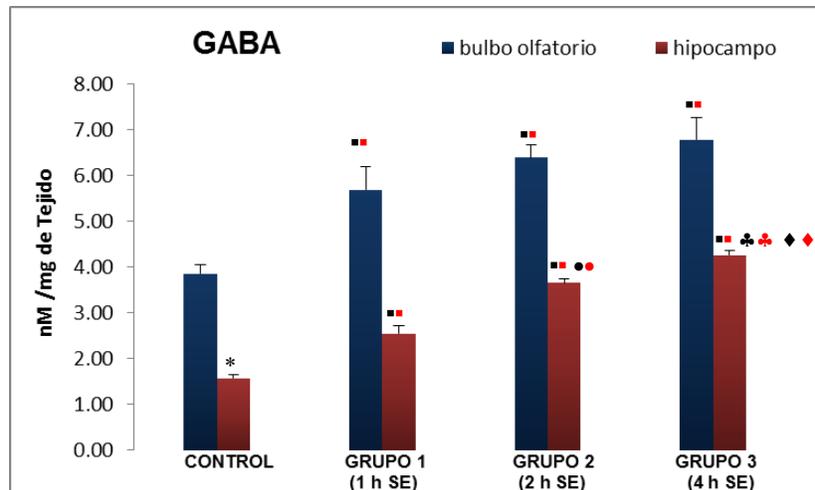
GRÁFICA 5. Respuesta de la concentración del aminoácido glicina después del SE en BO e HIP (Media \pm SEM). *Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; ● para una $p < 0.01$; ♣ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♠ para una $p < 0.01$; ♦ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ◆ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.

En la gráfica 6 se observa que los aumentos en la concentración de glicina en plasma (grupo 2 y 3) no son estadísticamente significativos con el grupo control ($p < 0.05$, $p < 0.01$); gráficamente se presenta el mismo cambio de concentración de glicina en HIP.



GRÁFICA 6. Respuesta de la concentración del aminoácido glicina después del SE en plasma (Media \pm SEM). ■Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; ● Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; ● para una $p < 0.01$; ▲Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ▲ para una $p < 0.01$; ◆Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ◆ para una $p < 0.01$. h: horas.

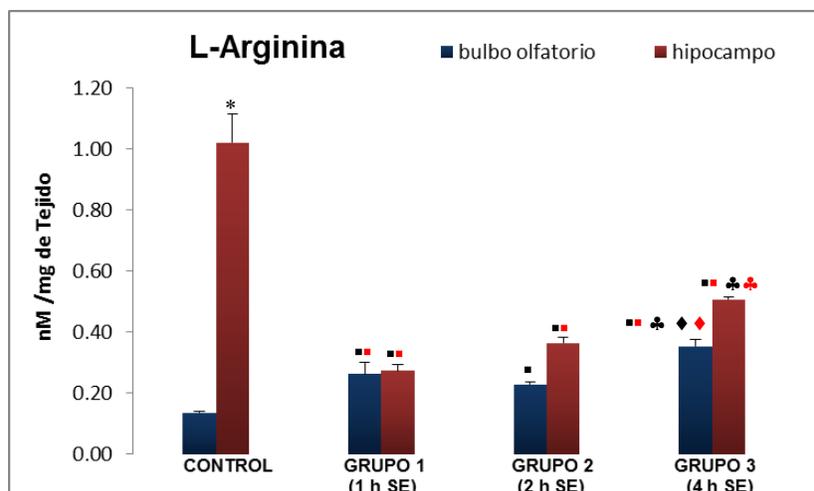
En la gráfica 7 se muestra la concentración de GABA (principal neurotransmisor inhibitorio) en BO e HIP, en ambos tejidos se observa que la concentración de GABA aumenta significativamente en función del tiempo de SE a diferencia de la concentración de los aminoácidos excitatorios y glicina. GABA se encuentra en mayor concentración en BO que en HIP por lo que el aumento de su concentración es mayor en los grupos de estudio (control, grupo 1, grupo 2 y grupo 3).



GRÁFICA 7. Respuesta de la concentración del aminoácido GABA después del SE en BO e HIP (Media \pm SEM). ■ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.

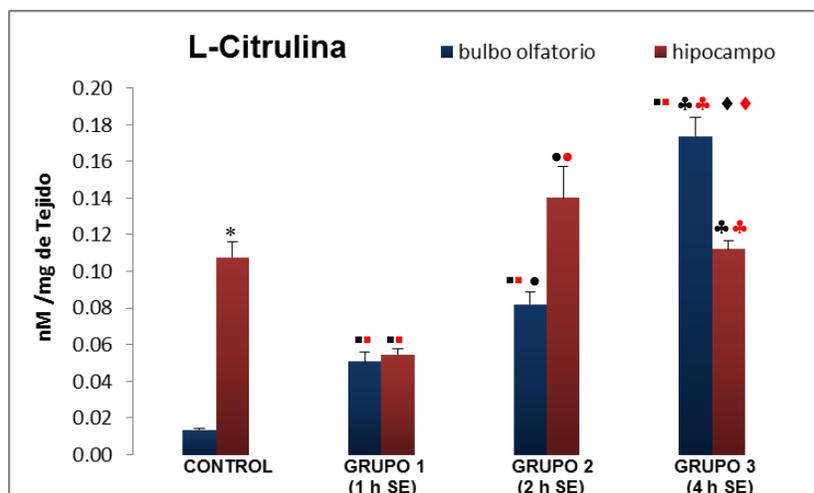
La arginina es un aminoácido esencial y no tiene funciones como neurotransmisor, sin embargo su metabolismo genera la formación de radicales libres relacionados con el estrés oxidativo (produce óxido nítrico y citrulina mediante la acción de la enzima óxido nítrico sintasa) que genera procesos neurodegenerativos. Se esperaría experimentalmente que al aumentar la concentración de arginina aumentará la concentración de citrulina, este caso sólo se presenta en nuestros resultados en BO, debido a que la concentración de arginina en BO no tuvo una disminución por debajo de la concentración del grupo control (gráfica 8). En el caso de HIP y plasma se observa que al disminuir la concentración de arginina disminuye la concentración de citrulina, y después de 4 horas con SE la concentración de ambos aminoácidos no llegan a recuperar la concentración inicial del grupo control.

En la gráfica ocho se observa que la concentración de arginina en BO (grupo control) es aproximadamente 80% menor que en HIP, y después de los primeros 60 minutos de SE las concentraciones en ambos tejidos se igualan aproximadamente.



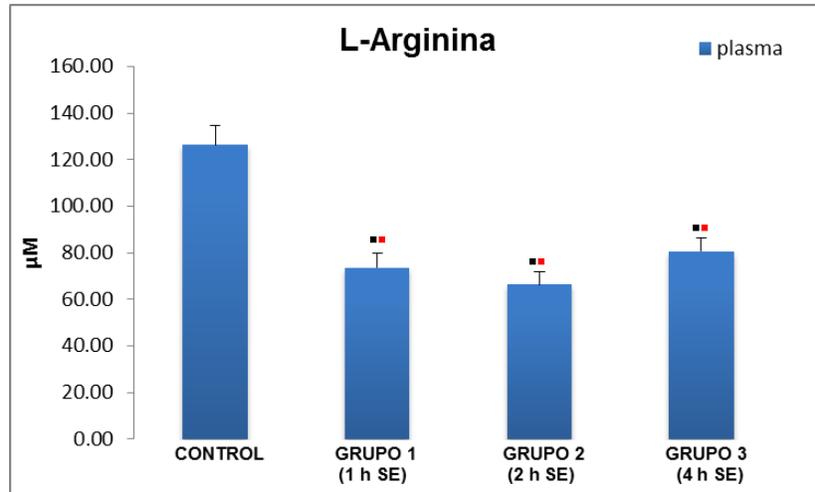
GRÁFICA 8. Respuesta de la concentración del aminoácido arginina después del SE en BO e HIP (Media \pm SEM).). ■Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.

La concentración de citrulina en condiciones normales es mayor en HIP que en BO. En BO se observa que la concentración de citrulina aumenta considerablemente en función del tiempo de SE.

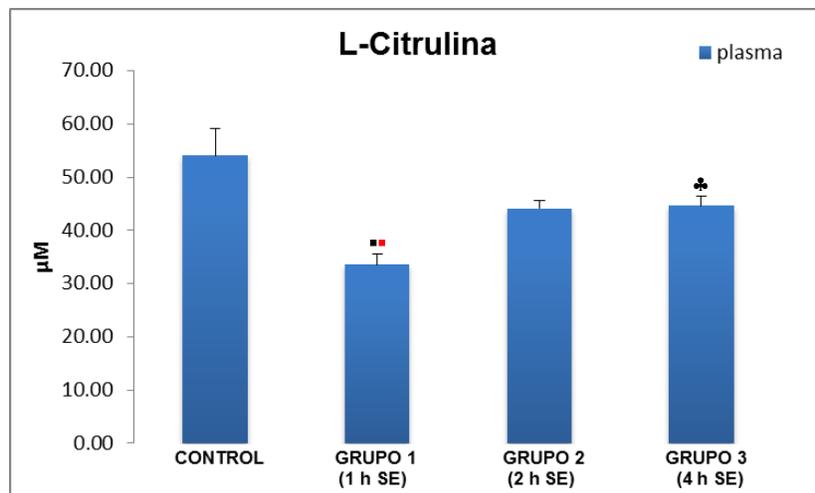


GRÁFICA 9. Respuesta de la concentración del aminoácido citrulina después del SE en BO e HIP (Media \pm SEM).). ■Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.

En la gráfica 9 se observa que en plasma la concentración de arginina disminuye significativamente después del SE (al igual que citrulina, gráfica 11), sin tendencia a recuperar la concentración de arginina en su estado basal (grupo control).



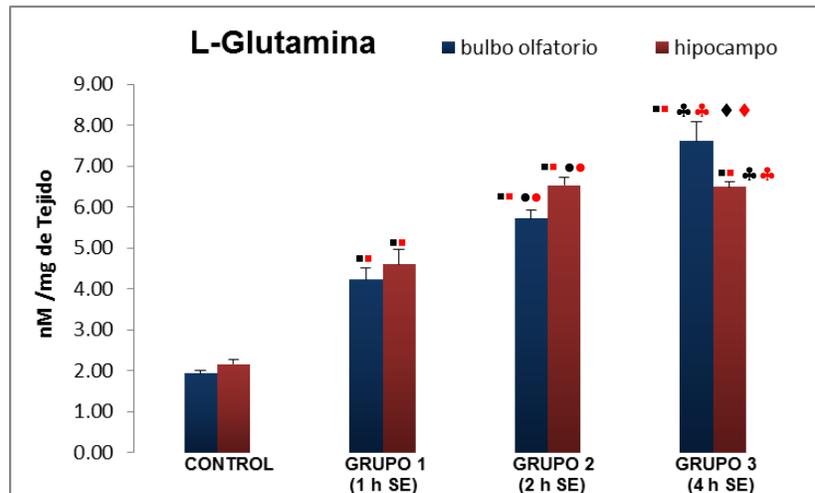
GRÁFICA 10. Respuesta de la concentración del aminoácido arginina después del SE en plasma (Media \pm SEM). ■ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. h: horas.



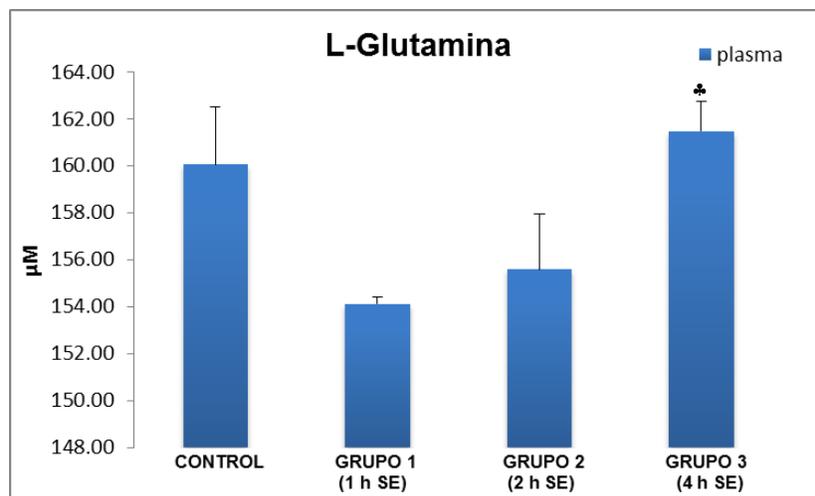
GRÁFICA 11. Respuesta de la concentración del aminoácido citrulina después del SE en plasma (Media \pm SEM). ■ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. h: horas.

La glutamina es un aminoácido no esencial y es el precursor para la síntesis de glutamato por desaminación de la glutamina mediante la enzima glutaminasa.

En la gráfica 9 observamos que en BO e HIP la concentración de glutamina aumenta significativamente en función del SE, estadísticamente (t de student $p < 0.05$) la concentración de glutamina en BO e HIP son iguales en el grupo control.



GRÁFICA 12. Respuesta de la concentración del aminoácido glutamina después del SE en BO e HIP (Media \pm SEM). ■ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.



GRÁFICA 13. Respuesta de la concentración del aminoácido glutamina después del SE plasma (Media \pm SEM). ■ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo en estudio (1, 2 ó 3) con el grupo control con una $p < 0.05$; ■ para una $p < 0.01$; • Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 2 con una $p < 0.05$; • para una $p < 0.01$; ♣ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 1 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♣ para una $p < 0.01$; ♦ Indica que existe diferencia significativa entre el grupo 2 y el grupo 3 con una $p < 0.05$; ♦ para una $p < 0.01$. * Indica que existe diferencia significativa entre el grupo control BO y el grupo control HIP con una $p < 0.05$. h: horas.

11. DISCUSIÓN

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar los cambios que se presentan en la concentración de los aminoácidos que participan como neurotransmisores clásicos, así como también de los aminoácidos esenciales y no esenciales que actúan como metabolitos para la formación de éstos, o que actúan activamente en el organismo, y así poder comparar el efecto que tiene el SE sobre las concentraciones de los aminoácidos (o viceversa) a nivel del SNC (HIP, BO) y SNP (plasma).

En la Hipótesis inicial se planteó que el cambio en la concentración de los aminoácidos con función de neurotransmisores excitatorios e inhibitorios en hipocampo, también podría ser observados en el bulbo olfatorio debido a que en personas con epilepsia se presenta un déficit olfatorio.

De acuerdo a la bibliografía consultada se tienen estudios que comprueban que en modelos de epilepsia, la concentración de los aminoácidos excitatorios aumenta, mientras que la concentración de los aminoácidos inhibitorios disminuye su concentración en hipocampo (Ben-Ari, 2010; Velasco, 1986; Fuentes, 1998). Los resultados muestran que en bulbo olfatorio e hipocampo si se presentan cambios significativos (ANOVA/Post Hoc Tuckey, $p < 0.05$, $p < 0.01$) en la concentración de los 18 aminoácidos evaluados en los grupos experimentales con SE (tablas 6 y 7).

En los datos obtenidos se encontró que en hipocampo todos los aminoácidos cuantificados a excepción de GABA y triptófano se encontraban en mayor concentración que en bulbo olfatorio (grupo control); en el bulbo olfatorio los aminoácidos excitatorios (aspartato y glutamato) presentaron una disminución en su concentración después de las 2 horas con SE, sin embargo no fue menor a la concentración del grupo control.

En hipocampo la concentración de aspartato disminuyó después de los primero 60 minutos con SE por debajo del grupo control significativamente, y el glutamato aumento constantemente.

En plasma se presentaron los mismos cambios en las variaciones de concentración que en hipocampo de los aminoácidos aspartato y glutamato (gráficas 1, 2, 3, 4 y 5).

La tendencia de la concentración de GABA en el bulbo olfatorio es semejante a la que se presenta en el hipocampo, el aumento de la concentración de glicina en función del SE es igual que GABA en bulbo olfatorio; aunque en hipocampo se presenta una disminución en la concentración de glicina después de la primera hora con SE su concentración aumenta después de 4 horas con SE, y en plasma se presenta las mismas variaciones de concentración de glicina. . En el caso de GABA en plasma los resultados mostraron un aumento de su concentración del grupo 2 y 3 (grupo 1 no determinado), sin embargo al ser datos únicos en cada grupo no pueden considerarse como un resultado representativo que considere el comportamiento real de la concentración GABA al *status epiléptico*.

Los resultados anteriores muestran que no sólo se presenta un aumento en la concentración de los aminoácidos excitatorios, sino que también aumenta la concentración de glicina y GABA después de 4 horas con SE.

Al comparar estadísticamente igualdad de concentraciones de los aminoácidos excitatorios e inhibitorios en bulbo olfatorio e hipocampo por medio de un análisis estadístico t de student con un nivel de confianza del 95% encontramos que la concentración del glutamato después de 1 hora con SE es igual en hip y bo. Esto es significativo ya que al ser el hipocampo nuestra referencia en cuanto al comportamiento de los neurotransmisores clásicos, se encontró que en el bulbo olfatorio el cambio de concentración del glutamato fue mayor después de la 1 hora con SE que en hipocampo y no se encuentran reportes en la literatura de que en bulbo olfatorio se presenten cambios en la concentración de glutamato, aspartato, glicina o GABA.

Se presentaron cambios en la concentración en los aminoácidos esenciales en bulbo olfatorio, hipocampo y plasma, el más representativo es la arginina debido a que su metabolismo por acción de la enzima óxido nítrico sintasa se produce

citulina y óxido nítrico, la acumulación de óxido nítrico produce formación de radicales libres que generan estrés oxidativo y éste proceso se encuentra hipotéticamente relacionado con patologías neurodegenerativas debido a que se presenta un desequilibrio entre la formación de radicales libres y los procesos antioxidantes, provocando daño celular por alteración de la permeabilidad de membrana, por lo al ser la ELT una enfermedad neurodegenerativa estos procesos metabólicos se pueden ver involucrados. En hipocampo y plasma la concentración de arginina y citulina disminuyó significativamente en los grupos con SE y no recuperó la concentración inicial en estado basal, mientras que en bulbo olfatorio la concentración de ambos aminoácidos en los grupos experimentales aumentó significativamente, de acuerdo a estos resultados se podría intuir que en bulbo olfatorio se presentan procesos de estrés oxidativo que podrían alterar el sistema olfatorio en las personas con epilepsia, pero al no medir indirectamente la formación de óxido nítrico mediante la cuantificación de nitritos y nitratos no podemos decir que nuestros datos sean concluyentes y demuestren que se deban a un proceso de stress oxidativo.

Los aminoácidos aromáticos esenciales fenilalanina, triptófano e histidina se asocian a errores congénitos en el metabolismo que producen retraso mental y producen aminas neuroactivas, al enfocarnos en el grupo 3 con 4 horas con SE observamos que la concentración de estos aminoácidos en hipocampo presentan una disminución y en plasma aumentan su concentración (aunque no es significativo) en comparación con su estado basal, mientras que en bulbo olfatorio la concentración de éstos aminoácidos aumenta significativamente.

El proceso metabólico involucrado en la formación de precursores para la síntesis de glutamato y aspartato es el Ciclo de Krebs, del cual se desprende el α -cetoglutarato (precursor del glutamato por acción de la enzima glutamato deshidrogenasa) y oxalacetato (precursor del aspartato por acción de la enzima transaminasa) y estos procesos se llevan a cabo en cualquier célula del organismos.

Esta vía de síntesis para los principales neurotransmisores excitatorios no es la única, ya que también se encuentran como precursores los aminoácidos glutamina (acción de la enzima glutaminasa) y asparagina (por acción de la enzima asparaginasa), para la formación de glutamato y aspartato. La glutamina en bulbo olfatorio e hipocampo aumentó significativamente conforme aumentaba el tiempo con SE, mientras que la asparagina en bulbo olfatorio siguió este comportamiento, en hipocampo el aumento no fue significativo ($p < 0.05$, $p < 0.01$). En plasma la glutamina aumento su concentración pero la asparagina se mantuvo por debajo de la concentración del grupo control.

El aminoácido glutamato es el precursor para la síntesis de la mayoría de los aminoácidos y es el único precursor para la síntesis de GABA a partir de la descarboxilación de glutamato mediada por la enzima GAD en las terminaciones presinápticas, nuestros resultados muestran que tanto en hipocampo como en bulbo olfatorio la concentración de GABA aumentaba significativamente con respecto a la concentración de glutamato, y el mayor aumento de GABA se presentó en bulbo olfatorio, el cual desde el grupo control presentó una mayor concentración.

La tirosina es precursor para la síntesis de 3 neurotransmisores dopamina, noradrenalina y adrenalina (en cada paso de la síntesis se emplea una enzima distinta) y este aminoácido sólo presentó un aumento en su concentración en bulbo olfatorio.

12. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que existen cambios significativos ($P < 0.05$, $P < 0.01$) en las concentraciones de los neurotransmisores excitatorios aspartato y glutamato, e inhibitorios como GABA y glicina durante el *status epileptico* en el hipocampo y en el bulbo olfatorio principalmente.

Los cambios sensoriales como las auras olfativas que se presentan en personas con epilepsia se pueden relacionar a las altas concentraciones de los aminoácidos glutamato y aspartato, así como también de GABA, que se presentan durante el *status epileptico*, sin embargo para obtener resultados concluyentes se tendría que realizar un modelo de epilepsia donde las crisis epilépticas sean espontáneamente recurrentes y la actividad olfatoria sea evaluada.

Se obtuvo experimentalmente en el perfil de liberación de los 18 aminoácidos evaluados después de 4 horas con SE que no sólo existe un aumento de la concentración aminoácidos excitatorios, sino que también aumentan las concentraciones de los aminoácidos inhibitorios en hipocampo y bulbo olfatorio.

Una disfunción de los sistemas involucrados en la neurotransmisión (GABAérgico o Glutamatérgico) se encuentran implicados en la generación de la epilepsia y de las crisis epilépticas.

El aumento en la concentración del Glutamato y/o disminución de GABA en la sinapsis, al igual que un aumento de la concentración de aminoácidos precursores de neurotransmisores puede estar asociado con la generación patológica de la epilepsia.

En bulbo olfatorio, hipocampo y plasma se presentan cambios en la concentración de los aminoácidos esenciales y no esenciales, siendo más parecidos estos cambios en hipocampo y plasma.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. <http://www.biopsicologia.net/nivel-3-participacion-plastica-y-funcional/1.4.-aminoacidos-neurotransmisores.html>
2. <http://themedicalbiochemistrypage.org/spanish/aminoacidderivatives-sp.html>
Neurotransmisores Derivados de la Tirosina, Neurotransmisores Derivados del Triptófano, Biosíntesis de la Creatina ,Funciones del Glutathion , Biosíntesis de la Poliamina Síntesis y Función del Óxido Nítrico (NO)

3. <http://www.google.com.mx/imgres?q=amino%C3%A1cidos+estructura+quimica&um=1&hl=es&sa=N&biw=962&bih=539&tbm=isch&tbnid=mBfVfewkYSrBZM:&imgrefurl=http://franmorancyp.blogspot.com/&docid=NXmMyIBWtLSMUM&imgurl=http://4.bp.blogspot.com/tZhOSADtSbA/TctOvIM832I/AAAAAAAAAAU/k7NoE76YH9M/s1600/aminoacido.JPG&w=702&h=500&ei=xV4ST6LxKKGsALHtvXC&zoom=1&iact=hc&vpx=334&vpy=207&dur=2028&hovh=189&hovw=266&tx=149&ty=123&sig=103827875791112854938&page=2&tbnh=146&tbnw=217&start=8&ndsp=8&ved=1t:429,r:1,s:8>
4. <http://bio.hgy.es/neurocon/congreso-1/conferencias/epilepsia-4.html>
5. Patiño M. N. "Farmacología médica". Médica Panamericana. UNAM Facultad de Medicina. México. 2008.
6. Goodman, L.S., and Gilman. A." The Pharmacological Basis of Therapeutics". 5th ed. New York: Macmillan Publishing Co., Inc., 1975., pp. 473
7. GlaxoSmithKline, "Consejo Nacional sobre el tratamiento en el manejo de la Epilepsia", México 2005.
8. Cooper. R. J., Bloom E. F., Roth H. R. Las Bases Bioquímicas de la Neurofarmacología. Manual moderno. (segunda edición). México. 1982
9. Pasantés-Morales H., Aréchiga H. Aminoácidos y péptidos en la integración de funciones nerviosas. Universidad Nacional Autónoma de México (primera edición), México. 1983.
10. Sutherland. J. M. Epilepsias, diagnóstico y tratamiento. Manual Moderno (segunda edición). México. 1982.
11. Compendio de Epilepsia. Programa prioritario de Epilepsia SSA. México.
12. Ben-Ari Y. and Dudek F. E. Primary and Secondary Mechanisms of Epileptogenesis in the Temporal Lobe: There is a before and after. *Epilepsy Currents*, Vol. 10, No. 5 (September/October) 2010 pp. 118-125
13. Porter E. B. Neurogénesis and Epilepsy in the Developing Brain. 2008.
14. Velasco F. A., Donnadieu R. F., Martínez de Muñoz D. Epilepsia un enfoque multidisciplinario. Trillas. México. 1986.
15. Tercel L. J. A, Cascales G. J. D, García P. R., Muñoz S. F. "Bioquímica y Biología Molecular para ciencias de la Salud". Mc Graw Hill. España. 2005

16. Seyhan E. Química Orgánica, Estructura y Reactividad. Reverté (Tomo II, Tercera edición). España. 2004. 1357p.
<http://books.google.com.mx/books?id=a0q3bMk5UrgC&pg=PA1198&dq=estructura+quimica+amino%C3%A1cidos&hl=es&sa=X&ei=QvALT4C0OuX6sQKe3tH7BQ&veAQ#v=onepage&q=estructura%20quimica%20amino%C3%A1cidos&f=false>
17. Harper A. H. "Manual de Química Fisiológica". (tercera edición). Manual Moderno. México. 1971.
18. Katzung G B. "Basic and Clinical Pharmacology". Mc Graw Hill Medical. University of California San Francisco. 2007.
19. Bustos, S. J. L., Quintero, A. R., Eslava, C. J. A., Nariño, G. D. Epilepsia: Nueva clasificación (ILAE 2001). Estudio comparativo con ILAE 1981 Y 1989. Colombia. 2009. *Repert.med.cir.*2009;18 (2):106-112.
20. Pastor J., Uzcátegui Y. G., Gal-Iglesias B., Ortega G. J., Sola R.G, Menéndez de la Pdrida L. "Bases fisiopatológicas de la epilepsia del Lóbulo Temporal: estudios en humanos y animales". *Revista de Neurología*, España.2006.
21. Oroquieta De Felipe J., Arellano J.I, Alonso L., Muñoz A. "Neuropatología de la epilepsia del lóbulo temporal. Alteraciones primarias y secundarias de los circuitos corticales y Epileptogenicidad. *Revista de Neurología*. España. 2002.
22. Guillemain I., Kahane P., Depaulis A. "Animal models to study an etipathology of epilepsy: what are the features to model?" France. *Epileptic Disord* 2012; 14 (3): 217-25.
23. Venegas A. M. A., Avilez B. A., Jimenez M. S. "Bioquímica de la Epilepsia y modelos experimentales de Epilepsia". ISSSTE. México. 2004.
24. Casarett J. L., Doull J., Curtis D. K. "Manual de Toxicología" (5ª Ed). Mc Graw-Hill. México. 2001.
25. Avendaño L. C. "Introducción a la química Farmacéutica" (segunda edición). Mc Graw-Hill. España. 2004.
26. Fuentes X. A., Lacambra C. M, J, Compañó Q. J. M. "Bioquímica Clínica y Patología Molecular", (segunda edición, volumen II). Reverté. 1998. España).

27. Quintal M. N. C. "Evaluación Olfatoria uni y birinal en pacientes con Epilepsia del lóbulo temporal". UNAM. 2011.
28. Arciniega A. E. "Evaluación de Aminoácidos plasmáticos por HPLC en Pacientes con Alzheimer". UNAM. 2009.
29. <http://www.epilepsiamexico.gob.mx/info-pacientes/frecuencia.htm>
30. Oren T., Feintuch A., Benifla M., Cohen A., Friedman A., and Shelef I. Blood-Brain Barrier Breakdown Following Traumatic Brain Injury: A Possible Role in Posttraumatic Epilepsy. Hindawi Publishing Corporation Cardiovascular Psychiatry and Neurology. Volume 2011, Article ID 765923, 11 pages doi:10.1155/2011/765923.
31. Cardinali D. P. Neurociencia aplicada: sus fundamentos. Médica Panamericana. Buenos Aires. 2007. 528 p. <http://books.google.com.mx/bkshp?hl=es&tab=pp>
32. Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M. Principios de Bioquímica. Omega, S. A (segunda edición). España. 1993. 1013p.
33. Henderson, J. W., Ricker, R. D., Bidlingmeyer, B. A., Woodward, C. Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids. Amino Acid Analysis Using Zorbax Eclipse-AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC. Agilent Technologies. EUA, 2000. PN 5980-1193E. 10p.
34. Harris. D. C. Análisis Químico Cuantitativo. Reverté (sexta edición). España. 2006. 785p.
35. <http://what-when-how.com/molecular-biology/gamma-aminobutyric-acid-gaba-molecular-biology/>
36. Gómez-Alonso J., Bellas-Lamas P. Nueva clasificación de las epilepsias de la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE): ¿un paso en dirección equivocada? Rev Neurol 2011; 52 (9): 541-547.
37. Cardinali. P. D. Manual de Neurofisiología. DIAZ DE SANTOS, S. A. Madrid (España). 1992. 338 p.

14. APÉNDICE

Definición del Estado epiléptico (GlaxoSmithKline, 2005).

