



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
CARRERA DE PSICOLOGÍA

**EFFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA  
TRANSCRANEAL FOCAL SOBRE LA  
EPILEPTOGÉNESIS EN RATAS DE LA CEPA  
WISTAR**

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA  
P R E S E N T A:  
PABLO DOMÍNGUEZ ZÚÑIGA

JURADO DE EXAMEN:

DIRECTOR: DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ

COMITÉ: DR. EDUARDO ALEJANDRO ESCOTTO CÓRDOVA

DRA. LILIA MESTAS HERNÁNDEZ

DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL

LIC. RUBÉN TORRES AGUSTÍN



CIUDAD DE MÉXICO

JUNIO, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

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

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

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

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

Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación de la Dirección de Investigaciones en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz con el número de proyecto NC123240.1. y fue apoyado por el programa de “A US-Mexico collaborative effort to improve epilepsy control and diagnosis” de los Institutos Nacionales de Salud (TW009384-01) de Electrical, Computer & Biomedical Engineering Interdisciplinary Neuroscience Program University of Rhode Island.

Se agradece la asistencia técnica de los señores Alfredo Martínez Rojas y Alejandro Rubio Luviano, y al Dr. Walter G. Besio por el suministro de material especializado.



INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA  
RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ

THE  
UNIVERSITY  
OF RHODE ISLAND

## DEDICATORIA

A mi madre Angélica, porque gracias a su ejemplo de fortaleza e inteligencia he podido enfrentar muchas dificultades con valentía. A mi padre Ricardo, un ejemplo de sensibilidad y creatividad que me inspira siempre a tratar de perfeccionar lo que hago. Sin ustedes este trabajo no sería posible, los amo demasiado.

A mi hermano Saúl, ha sido clave en el entendimiento de varios apartados de este proyecto gracias a su gran capacidad de razonamiento, siendo un ejemplo de serenidad y concentración que me dejan sorprendido. Te amo y admiro.

A mis tíos Verónica, Darío, Magdalena, Miriam y Fabiola, mis primos Sheila, Issac, Joaquín y Oswaldo y mi abuela Carmen, por siempre brindarme su apoyo. A mis abuelos Esperanza y Wenceslao, cuyos recuerdos en vida siempre me hacen sonreír.

A mis amigos que compartieron conmigo esta travesía, Diana, Vanessa, Jessica, Cintia, Abi y Eric, son una parte importante y bella de mi vida.

A José Luis y Brenda, porque en momentos complicados han estado siempre a mi lado.

Para mis compañeros de laboratorio Dona, Adrián, Ale Díaz, Eli, Luis, Diego, Gerardo, Dieter, Allen, César, Samaria y Fer, con quienes compartí grandes momentos. Para mis amigos Ana, Ale Garay y Mario, con ustedes he construido un lazo especial de amistad que estará conmigo siempre.

Al doctor y jefe, Alejandro Valdés Cruz, te agradezco la confianza y el gran apoyo que me has brindado al permitirme conocer esto de las neurocosas. Eres una persona que admiro mucho y con una calidad humana increíble.

A los doctores Víctor Manuel Magdaleno Madrigal y David Martínez Vargas, gracias por todas las enseñanzas y la orientación que me dieron, han sido fundamentales para este trabajo. Finalmente agradecer a los ingenieros Salvador y Rodrigo por las clases que me ayudaron a comprender mejor varios aspectos importantes de la física y las matemáticas.

---

# ABREVIATURAS

<b>A</b>	Amper
<b>AK</b>	Ácido Kaínico
<b>AM</b>	Amígdala
<b>AMPA</b>	Ácido $\gamma$ -Amino-3-Hidroxi-5-Metil-4-Isoxazolpropiónico
<b>ANOVA</b>	Análisis de Varianza
<b>ATP</b>	Adenosín Trifosfato
<b>BDNF</b>	Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro
<b>CA1, CA2, CA3, CA4</b>	<i>Cornu de Ammonis</i> 1,2,3 y 4 del hipocampo
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcio
<b>cAMP</b>	Adenosín Monofosfato Cíclico
<b>CCGTC</b>	Crisis Convulsiva Generalizada Tónico-Clónica
<b>CE</b>	Crisis Epiléptica
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Cloro
<b>CREB</b>	Elemento de Respuesta a Unión de Proteína cAMP
<b>Cx En</b>	Corteza Entorrinal
<b>Cx Per</b>	Corteza Perirrinal
<b>Cx Pf</b>	Corteza Prefrontal
<b>Cx Pir</b>	Corteza Piriforme
<b>DBS</b>	Estimulación Cerebral Profunda
<b>DCP</b>	Depresión Conductual Post-ictal
<b>DIE</b>	Descargas Interictales Epileptiformes
<b>DPP</b>	Depresión por Pulsos Pareados
<b>Ean</b>	Estimulación Anódica
<b>Eca</b>	Estimulación Catódica
<b>EGG</b>	Electroencefalograma/fico
<b>EETF</b>	Estimulación Eléctrica Transcraneal Focal
<b>EETFP</b>	Estimulación Eléctrica Transcraneal Focal Preventiva
<b>EETFR</b>	Estimulación Eléctrica Transcraneal Focal Responsiva
<b>ELT</b>	Epilepsia de Lóbulo Temporal
<b>ELTM</b>	Epilepsia de Lóbulo Temporal Mesial
<b>Esch</b>	Esclerosis Hipocampal
<b>ETAC</b>	Electrodos Tripolares de Anillo Concéntrico
<b>FAE</b>	Fármacos Antiepilépticos
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -Amino Butírico
<b>GD</b>	Giro Dentado
<b>GDNF</b>	Factor Neurotrófico Derivado de célula Glial
<b>GFAP</b>	Proteína Ácida Fibrilar Glial
<b>HFO</b>	Oscilaciones de Alta Frecuencia
<b>HPLC</b>	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IBE</b>	Buró Internacional para la Epilepsia

<b>ICER</b>	Represor Temprano de cAMP Inducible
<b>IL</b>	Interleucina
<b>ILAE</b>	Liga Internacional Contra la Epilepsia
<b>IP<sub>3</sub></b>	Inositol Trifosfato
<b>JAK-STAT</b>	Proteínas Janus Quinasa, Transductoras de Señales y Activadoras de Transcripción
<b>K<sup>+</sup></b>	Potasio
<b>KCC</b>	Cotransportador de Cloro y Potasio
<b>KCP</b>	<i>Kindling</i> a Corto Plazo
<b>KEA</b>	<i>Kindling</i> Eléctrico Amigdalino
<b>KLP</b>	<i>Kindling</i> a Largo Plazo
<b>KP</b>	<i>Kindling</i> Parcial
<b>LTD</b>	Depresión a Largo Plazo
<b>LTP</b>	Potenciación a Largo Plazo
<b>MAPK</b>	Proteína Quinasa Activada por Mitógenos
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	Magnesio
<b>mGluR</b>	Receptor metabotrópico glutamatérgico
<b>mRNA</b>	Ácido Ribonucleico mensajero
<b>mTOR</b>	Diana de Rapamicinas en Células de Mamífero
<b>Na<sup>+</sup></b>	Sodio
<b>NGF</b>	Factor de Crecimiento Nervioso
<b>NHLC</b>	Neuropéptido Liberador de la Hormona Corticotropina
<b>NKCC</b>	Cotransportador de Sodio, Potasio y Cloro
<b>NMDA</b>	N-Metil-D-Aspartato
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PD</b>	Postdescarga
<b>PKC</b>	Proteína quinasa C
<b>PPE</b>	Potenciales Post-sinápticos Excitatorios
<b>PPI</b>	Potenciales Post-sinápticos Inhibitorios
<b>ptdIns</b>	Fosfatodilinositol
<b>PTZ</b>	Pentilentetrazol
<b>SE</b>	Estado Epiléptico
<b>TDCS</b>	Estimulación Eléctrica Transcraneal de Corriente Directa
<b>TGF</b>	Factor de Crecimiento Tumoral
<b>TMS</b>	Estimulación Magnética Transcraneal
<b>TNF</b>	Factor de Necrosis Tumoral
<b>Trk</b>	Tirosina Quinasa
<b>V</b>	Volt
<b>VEGF</b>	Factor de Crecimiento Endotelial Vascular
<b>VNS</b>	Estimulación Eléctrica del Nervio Vago
<b>Z<sup>2+</sup></b>	Zinc

# ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>CAPÍTULO 1 EPILEPSIA, CRISIS EPILÉPTICAS Y SÍNDROMES EPILÉPTICOS ...</b>	<b>5</b>
1.1. DEFINICIÓN .....	7
1.2. CRISIS EPILÉPTICAS Y CLASIFICACIÓN.....	8
1.3. SÍNDROMES EPILÉPTICOS Y CLASIFICACIÓN .....	13
1.3.1. <i>Sobre la epilepsia del lóbulo temporal.....</i>	<i>18</i>
1.3.1.1. Fisiopatología de la epilepsia del lóbulo temporal .....	18
1.3.1.1.1. Bases moleculares y morfológicas de las alteraciones celulares en la ELT .....	20
1.3.1.1.1.1. Neurodegeneración.....	20
1.3.1.1.1.2. Neuroinflamación .....	21
1.3.1.1.1.3. Gliosis .....	21
1.3.1.1.1.4. Neurogénesis: crecimiento axonal y plasticidad dendrítica .....	22
1.3.1.1.1.5. Angiogénesis.....	23
1.3.1.1.2. Desbalance excitación/inhibición en la ELT: alteraciones químicas y electrofisiológicas.....	24
1.3.1.1.2.1. Alteraciones asociadas a la neurotransmisión glutamatérgica.....	24
1.3.1.1.2.2. Alteraciones asociadas a la neurotransmisión GABAérgica.....	27
1.3.1.1.3. Lesión esclerótica hipocampal .....	31
1.3.1.1.4. Desarrollo de resistencia farmacológica .....	33
<b>CAPÍTULO 2 REPRODUCIENDO LA PATOLOGÍA: MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA.....</b>	<b>36</b>
2.1. <i>KINDLING</i> ELÉCTRICO AMIGDALINO COMO UN MODELO DE ELT Y EPILEPTOGÉNESIS	42
2.1.1. <i>Características progresivas y filogenéticas en el KEA.....</i>	<i>44</i>
2.1.2. <i>Vías de propagación cerebral en el kindling.....</i>	<i>45</i>
2.1.3. <i>Cambios permanentes.....</i>	<i>48</i>
2.1.3.1. Alteraciones electrofisiológicas y conductuales .....	49
2.1.3.2. Alteraciones anatómicas y morfológicas.....	56
2.1.3.3. Alteraciones químicas y moleculares.....	59
2.1.3.3.1. Alteraciones asociadas al incremento de glutamato .....	60
2.1.3.3.2. Falla de los sistemas de neurotransmisión inhibitoria .....	64
2.1.3.3.3. Aparición de crisis espontáneas .....	67
2.1.3.4. Efecto de fármacos antiepilépticos sobre crisis por kindling eléctrico: validación clínica del modelo.....	69
<b>CAPÍTULO 3 SOBRE LOS TRATAMIENTOS DE LA EPILEPSIA.....</b>	<b>75</b>
3.1. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO .....	76
3.2. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO .....	79
3.3. NEUROMODULACIÓN ELÉCTRICA .....	82
3.3.1. <i>Estimulación eléctrica del nervio vago.....</i>	<i>86</i>
3.3.2. <i>Estimulación cerebral profunda .....</i>	<i>89</i>
3.3.3. <i>Estimulación transcraneal.....</i>	<i>92</i>
3.3.3.1. Estimulación magnética transcraneal .....	95
3.3.3.2. Estimulación eléctrica transcraneal de corriente directa.....	100
3.4. CONSIDERACIONES ACERCA DE LOS TRATAMIENTOS PARA LA EPILEPSIA: EFECTOS COLATERALES .....	106
<b>CAPÍTULO 4 ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA TRANSCRANEAL FOCAL VÍA ELECTRODOS TRIPOLARES DE ANILLO CONCÉNTRICO.....</b>	<b>110</b>
4.1. POTENCIALES BIDIMENSIONALES Y MODELO COMPUTACIONAL.....	114
4.2. HALLAZGOS EXPERIMENTALES.....	117
<b>5 JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>120</b>
5.1. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA .....	121
5.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	122



<b>6</b>	<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>124</b>
6.1.	VARIABLES	125
6.1.1.	<i>Variables independientes</i>	125
6.1.2.	<i>Variables dependientes</i>	125
6.2.	HIPÓTESIS	125
6.3.	OBJETIVOS	126
6.3.1.	<i>Objetivo general</i>	126
6.3.2.	<i>Objetivos específicos</i>	126
<b>7</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>127</b>
7.1.	APARATOS	128
7.2.	MATERIALES	128
7.3.	SUSTANCIAS	128
7.4.	PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	129
7.4.1.	<i>Animales experimentales</i>	129
7.4.2.	<i>Grupos y procedimientos experimentales</i>	129
7.4.3.	<i>Implante de los electrodos</i>	130
7.4.4.	<i>Procedimientos de estimulación</i>	131
7.4.4.1.	<i>Estimulación Eléctrica Transcraneal Focal</i>	131
7.4.4.2.	<i>Búsqueda de umbral de estimulación y KEA</i>	132
7.4.5.	<i>Registro electroencefalográfico</i>	132
7.4.6.	<i>Análisis de la potencia espectral</i>	134
7.4.7.	<i>Registro conductual</i>	138
7.4.8.	<i>Análisis histológico</i>	138
7.4.9.	<i>Análisis estadístico</i>	138
<b>8</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>140</b>
8.1.	VERIFICACIÓN HISTOLÓGICA	141
8.2.	ESTIMULACIONES NECESARIAS PARA PRESENTAR LA PRIMERA CRISIS CONVULSIVA GENERALIZADA TÓNICO-CLÓNICA	142
8.3.	DESARROLLO DE LA EPILEPTOGÉNESIS: PERMANENCIA, DURACIÓN Y FRECUENCIA	142
8.4.	SENSIBILIZACIÓN POR KEA: PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD A LAS CRISIS PARCIALES Y CRISIS GENERALIZADAS	144
8.5.	VARIACIONES EN LA POTENCIA ESPECTRAL	145
8.5.1.	<i>Dinámica de la potencia espectral en la amígdala</i>	148
8.5.2.	<i>Dinámica de la potencia espectral en la corteza prefrontal izquierda</i>	150
8.5.3.	<i>Dinámica de la potencia espectral en la corteza prefrontal derecha</i>	152
<b>9</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>154</b>
9.1.	EFFECTO DE LA EETF SOBRE EL DESARROLLO DE LA EPILEPTOGÉNESIS Y LA SUSCEPTIBILIDAD A CRISIS GENERALIZADAS	154
9.2.	EFFECTO DE LA EETF SOBRE LA DINÁMICA DE LA POTENCIA ESPECTRAL	156
9.3.	DISTRIBUCIÓN DE LA EETF DEBIDO A VARIABLES ANATÓMICAS Y FUNCIONALES	157
9.4.	EFFECTOS DIFERENCIALES DE LA EETFR Y EETFP SOBRE EL DESARROLLO DE LA EPILEPTOGÉNESIS	160
9.4.1.	<i>Efectos de la EETFR</i>	160
9.4.2.	<i>Efectos de la EETFP</i>	161
9.5.	CONSIDERACIONES FUTURAS	164
<b>10</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>166</b>
	REFERENCIAS	167

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación operacional de las CE .....	9
Tabla 2. Clasificación de los síndromes epilépticos de acuerdo a la edad de inicio .....	14
Tabla 3. Modelos experimentales de epilepsia en animales .....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Patrones electroencefalográficos comunes durante el comienzo de CE. ....	12
Figura 2. Alteraciones celulares que ocurren durante el proceso de epileptogénesis. ....	19
Figura 3. Progresión electrográfica de la actividad epileptiforme. ....	27
Figura 4. Interacción entre células principales, interneuronas y actividad de K <sup>+</sup> durante diferentes estados del EEG.....	31
Figura 5. Diagrama de estructuras cerebrales que son responsivas al <i>kindling</i> eléctrico.....	43
Figura 6. EEG representativo de la actividad en la amígdala de rata.....	45
Figura 7. Progresión conductual y EEG de la epileptogénesis en crisis inducidas por KEA.....	54
Figura 8. Desarrollo de la epileptogénesis y aparición de crisis espontáneas en el modelo de <i>kindling</i> eléctrico y <i>status epilepticus</i> . ....	68
Figura 9. Representación esquemática de los principales blancos para los FAE de GABA y glutamato en terminales postsinápticas.....	77
Figura 10. Panorama general de los principales procedimientos para la cirugía resectiva y sus blancos clínicos. ....	81
Figura 11. Predicción y detección de crisis y principales parámetros de estimulación. ....	84
Figura 12. Esquema racional de la electroterapia. ....	85
Figura 13. Esquema que presenta la ubicación de electrodos en el nervio vago izquierdo.....	86
Figura 14. Cambios generados por la estimulación vagal en el tratamiento de la epilepsia refractaria. ....	87
Figura 15. Implante de DBS y activación de neurona GABAérgica.....	90
Figura 16. Función sigmoidea de entrada-respuesta. ....	94
Figura 17. Representación de los blancos de TMS en la epilepsia. ....	96
Figura 18. Difusión del campo magnético por TMS.....	99
Figura 19. Modelo que presenta el campo eléctrico generado por la inducción de corriente durante TDCS.....	101
Figura 20. Efectos colaterales en sistemas de DBS.....	108
Figura 21. Modelo de elementos finitos para campos eléctricos cerebrales inducidos por varias estimulaciones superficiales. ....	112
Figura 22. Distribución de mediciones de voltaje en un ETAC.....	115
Figura 23. Modelo computacional de un dipolo en un plano. ....	116
Figura 24. Esquema de procedimientos metodológicos.....	130
Figura 25. Sistema de registro y estimulación.....	131
Figura 26. Registros EEG representativos de la AM. ....	133
Figura 27. Análisis de la transformada rápida de fourier. ....	136

Figura 28. Histología para verificación de trayectoria del electrodo. ....	141
Figura 29. Distribución poligonal de la evolución de la epileptogénesis a través de los días. ....	142
Figura 30. Permanencia durante la epileptogénesis. ....	143
Figura 31. Duración y frecuencia de la PD. ....	144
Figura 32. Prueba de susceptibilidad a las crisis. ....	145
Figura 33. Trazos EEG representativos de cada estadio conductual analizado. ....	146
Figura 34. Espectrogramas representativos de potencia. ....	147
Figura 35. Variaciones de la potencia espectral en la AM con tratamiento por EETF. ....	149
Figura 36. Variaciones de la potencia espectral en la Cx P Izq con tratamiento por EETF. ....	151
Figura 37. Variaciones de la potencia espectral en la Cx P Der con tratamiento por EETF. ....	153
Figura 38. Representación del mecanismo teórico de acción inhibitorio por EETF vía ETAC. ....	163

---

# RESUMEN

La estimulación eléctrica transcraneal focal (EETF) vía electrodos tripolares de anillo concéntrico (ETAC) es una propuesta de tratamiento experimental no invasiva para la epilepsia farmacorresistente. El *kindling* eléctrico amigdalino (KEA) es un modelo de epileptogénesis que provoca cambios graduales en la excitabilidad neuronal y es empleado para evaluar el efecto de tratamientos en distintas fases de evolución convulsiva. El objetivo de esta investigación fue analizar el efecto de la EETF sobre la progresión de la epileptogénesis a partir de los estadios iniciales del KEA.

Se utilizaron 18 ratas macho Wistar con peso de 300-380 g, implantadas estereotáxicamente en la amígdala izquierda, electrodos epidurales en ambas cortezas prefrontales, y un ETAC en el vértex. Se formaron 3 grupos: grupo EETF responsiva (EETFR, n=6), que recibió la EETF (2 minutos, pulsos bifásicos 200  $\mu$ s, 300 Hz, 2 mA,) inmediatamente después del KEA (1 s, pulsos monofásicos 1 ms, 60 Hz, 150-500  $\mu$ A); grupo EETF preventiva (EETFP, n=6), al que se le aplicó sólo la EETF por 10 días, posteriormente se aplicó la EETF previo al KEA, y un grupo control (n=6) que sólo recibió KEA. En todos los animales se aplicó el KEA hasta presentar tres crisis convulsivas generalizadas tónico-clónicas (CCGTC) consecutivas y 24 horas después se realizó una prueba de susceptibilidad a las CCGTC. Se evaluó el desarrollo del KEA con la escala conductual de Racine y se analizó el poder espectral de los registros electroencefalográficos de la amígdala y ambas cortezas en ventanas de tiempo de 5 minutos para actividad de línea base y post-ictal, en las bandas de frecuencia de 0-4 Hz, 5-7 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz.

Se obtuvieron los siguientes resultados: se observó una tendencia del grupo EETFP a retardar la progresión de la epileptogénesis presentando menor duración de las crisis y un aumento en la latencia a las CCGTC, hallazgo que se asocia al aumento en la permanencia de crisis menos severas. También se observó una tendencia del grupo EETFP a disminuir la duración de las crisis y una tendencia del grupo EETFR a disminuir la severidad presentando menor frecuencia, efectos visibles en crisis parciales y transición a generalizadas.

Respecto a la potencia, durante las crisis parciales hubo una mayor potencia en el grupo control comparado con la EETFR y EETFP en las bandas de 0-4 Hz y de 5-7 Hz en la amígdala y ambas cortezas ( $p < 0.05$ ). En las crisis parciales se observó una menor potencia de la EETFP en comparación con el grupo control en las bandas de 0-4 Hz, 8-14 Hz y de 15-30 Hz ( $p < 0.05$ ). La EETFR tuvo menor potencia en comparación con el grupo control y la EETFP en ambas cortezas en la banda de 15-30 Hz ( $p < 0.05$ ) durante las crisis

generalizadas. Para susceptibilidad a las CCGTC se observó que sólo el grupo control mostró un incremento comparado con los grupos que recibieron EETF ( $p < 0.05$ ).

La disminución de la potencia de las bajas frecuencias con ambos protocolos de estimulación estaría asociada a la disminución de la actividad sincronizante provocando un efecto de retardo parcial en la epileptogénesis. La reducción de la potencia de la frecuencia mayor de 15 Hz, observada con la EETFR reflejaría la disminución de la excitabilidad neuronal que podría retardar la aparición de crisis subsecuentes. Asimismo, la disminución de la susceptibilidad a las CCGTC podría deberse a la reducción de la potencia en general que provocan ambos tipos de EETF. Los efectos protectores se pueden asociar a la estabilidad en los niveles de GABA y glutamato que se han descrito con la EETF.

Se concluye que la EETFP interfiere con la severidad de las crisis durante la instalación de la epileptogénesis, en contraste con la EETFR que produce mayor efecto una vez que se ha instalado, presentando menor potencia espectral. Por lo tanto, este tipo de estimulación podría ser coadyuvante en el tratamiento de las epilepsias farmacorresistentes.

**Palabras clave:** epilepsia farmacorresistente, estimulación eléctrica transcraneal focal, electrodo tripolar de anillo concéntrico, *kindling*, epileptogénesis, potencia espectral

---

## INTRODUCCIÓN

La epilepsia es una alteración del sistema nervioso central que se caracteriza por un incremento y sincronización anormales de la actividad eléctrica neuronal, que se manifiesta a través de crisis recurrentes y espontáneas, así como por cambios electroencefalográficos, tales manifestaciones clínicas son muy variables y dependen del área cerebral involucrada. Esto es fundamental en el diagnóstico, basándose en la identificación de una anomalía epileptogénica persistente que es capaz de generar actividad paroxística (López-Meraz et al., 2009; Yusta, 2005). Dentro del conjunto de síndromes epilépticos se encuentra la epilepsia de lóbulo temporal (ELT), uno de los síndromes con mayor prevalencia e incidencia dentro de las epilepsias de inicio focal, donde hasta el 66% de los pacientes epilépticos la padecen y un 35% desarrolla epilepsia farmacorresistente, disminuyendo de forma considerable su calidad de vida (Téllez-Zenteno & Hernández-Ronquillo, 2012; Granata et al., 2009).

La alta prevalencia de esta enfermedad, así como la ausencia de un tratamiento antiepileptógeno, hace necesario realizar nuevos estudios y crear

modelos experimentales que permitan comprender mecanismos básicos fisiopatológicos e identificar tratamientos eficaces (García-García, García-Morales & Guiu, 2009). El desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas está encaminado a la disminución en la severidad de las crisis y a un mejoramiento de la prognosis, sugiriéndose para ello cirugías resectivas y más recientemente, la implementación de dispositivos de neuromodulación eléctrica. A pesar de estos avances en muchas ocasiones estas terapéuticas representan un riesgo para el paciente, desde condiciones donde las sesiones de tratamiento son muy costosas y los efectos secundarios pueden interferir con las actividades cotidianas, hasta la consideración de una cirugía que resultaría en un procedimiento muy peligroso.

En los últimos años se han venido desarrollando dispositivos transcraneales de neuromodulación que disminuyen considerablemente los riesgos y efectos colaterales en el paciente, entre estas técnicas existe la estimulación eléctrica transcraneal focal (EETF) vía electrodos tripolares de anillo concéntrico (ETAC), que maximiza el efecto de la estimulación mediante su focalización sin causar daños en el tejido o algún otro efecto secundario, demostrando su potencial anticonvulsivo en varios modelos experimentales. Sin embargo, también resulta importante analizar si tales efectos terapéuticos pueden también ser eficaces durante el proceso de epileptogénesis, período durante el cual se suscitan una serie de cambios plásticos en el cerebro que lo predisponen a la aparición de crisis recurrentes, además de si estos efectos dependen de cuando la estimulación es aplicada.

En esta investigación se describen conceptos básicos de la epilepsia y de la ELT, modelos experimentales de epileptogénesis y se hace la descripción de los tratamientos más importantes para el control de las crisis epilépticas (CE), haciendo un especial énfasis en el desarrollo de la EETF.

En el capítulo 1 se revisan la definición y clasificación de la epilepsia y de las CE con sus diferentes componentes conductuales y características electroencefalográficas (EEG), además se hace un enfoque en la ELT, sus distintos tipos y la fisiopatología de la misma abarcando los cambios moleculares, celulares, morfológicos, químicos y electrofisiológicos que se desencadenan durante la epileptogénesis y que culminan en la aparición de la epilepsia crónica y la farmacorresistencia.

El capítulo 2 está enfocado en la revisión de los modelos experimentales, sus características principales de validación y los distintos agentes que pueden ser empleados para la investigación, haciendo especial énfasis en el *kindling* eléctrico como un modelo validado de epileptogénesis, describiendo las características neurofisiológicas que lo sustentan así como las alteraciones permanentes que se establecen como consecuencia de las crisis generadas,

las cuáles tienen grandes semejanzas con las reportadas en la experiencia clínica en pacientes con ELT y farmacorresistencia.

En el capítulo 3 se hace una descripción de las distintas alternativas de tratamiento farmacológico, quirúrgico y de neuromodulación eléctrica invasiva y no invasiva, centrándose en los efectos de su uso para el control de las crisis convulsivas, así como de las bases electrofisiológicas que los sustentan. El marco teórico culmina en la descripción de la EETF vía ETAC en el capítulo 4, revisando algunos conceptos físicos, geométricos y computacionales de su desarrollo y los efectos que ejerce en crisis evocadas en distintos modelos experimentales. Hacia el final del trabajo se presentan los esquemas metodológicos que dan cuenta de los efectos de la EETF con distintas modalidades de inducción durante los cambios EEG y conductuales del modelo de *kindling* eléctrico, tema central de la presente investigación. De esta forma se brinda un panorama general de las diferentes directrices que involucra la comprensión de la epilepsia, desde una perspectiva neurobiológica abordando sus mecanismos de aparición y la problemática actual de los pacientes que cursan con una prognosis pobre y que necesitan de nuevas terapéuticas para mejorar su calidad de vida.

---

# CAPÍTULO 1 EPILEPSIA, CRISIS EPILEPTICAS Y SÍNDROMES EPILEPTICOS



De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2017, la epilepsia es un trastorno neurológico crónico que afecta a unos 50 millones de personas en todo el mundo, convirtiéndolo en uno de los padecimientos neurológicos más comunes. Su etiología es multifactorial, pudiendo ser traumatismos craneoencefálicos, surgimiento de infecciones o alguna alteración genética el detonante de esta patología. Es una enfermedad cerebral crónica que puede padecer cualquier persona y que se caracteriza por la aparición de crisis recurrentes. Tales manifestaciones patológicas se deben a descargas eléctricas excesivas de grupos de células cerebrales y las características de estos ataques tienen una gran diversidad en su fenomenología conductual dependiendo de la zona del cerebro donde se origine la alteración, así como de sus patrones de propagación.

En América Latina es uno de los padecimientos más comunes del sistema nervioso representando un gran problema de salud pública. Las personas con epilepsia que viven en América Latina, y sobre todo en regiones aisladas, se enfrentan a problemas como la disponibilidad de la atención médica y el estigma social, tornando su vida cotidiana más incapacitante. En México se calcula que aproximadamente entre 7 y 8% de la población padece algún trastorno del sistema nervioso, entre los cuales la epilepsia representa una gran proporción. La prevalencia de epilepsia en nuestro país se estima entre 11.1-20.3 casos por cada 1000 personas, resultando en la existencia de 1 a 2 millones de mexicanos con esta enfermedad. La gravedad de la presencia de epilepsia en México ha llevado a crear el Programa Prioritario de Epilepsia, dependencia de la Secretaría de Salud que se extiende en hospitales de toda la república (Velasco, 2013; Villasana, 2014).

La OMS acepta que la epilepsia representa un gran problema por su magnitud, trascendencia y vulnerabilidad. Su prevalencia, su cronicidad, su alta morbilidad y baja mortalidad demuestran la repercusión social y de calidad de vida que tiene, no sólo en el paciente, sino también en el núcleo familiar que lo sostiene.

Crear medidas de impacto para la prevención además del control de los factores que intervienen en la génesis de la epilepsia es uno de los pilares angulares que la experiencia clínica y la ciencia han determinado como urgentes. El conocimiento científico no se detiene, y conforme evolucionan las neurociencias algunos conceptos en cuanto a definición y clasificación presentan constantes cambios (Velasco, 2013). En este primer apartado se abordarán algunos aspectos sobre la definición de epilepsia que han sido clave en la comprensión de la enfermedad y que posibilitan la unificación de ciertos criterios y términos importantes para un correcto diagnóstico, así como las principales clasificaciones que se han desarrollado.

## 1.1. Definición

La epilepsia es una enfermedad compuesta por una variedad de desórdenes de la función cerebral que tiene su etiología en diversas causas, no obstante, un acuerdo común existe en la definición de los términos crisis y epilepsia. Tales definiciones son importantes para la comunicación entre profesionales de la salud e investigadores. La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE por sus siglas en inglés, *International League Against Epilepsy*) y el Buró Internacional para la Epilepsia (IBE por sus siglas en inglés, *International Bureau for Epilepsy*) presentan definiciones operacionales aplicables en el ámbito médico-científico para que puedan ser aplicadas fácilmente en circunstancias particulares. La epilepsia se define operacionalmente en el 2005 como un trastorno del cerebro que se caracteriza por una predisposición duradera a generar CE y que tiene consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales (Fisher et al., 2005; Fisher et al., 2014). Definiciones precedentes se han construido basándose en aportaciones de la neuroimagen, tecnología genómica, y conceptos de la biología molecular. La inclusión de variables ambientales como parte de la epilepsia hacen de esta definición más completa en el marco de las neurociencias clínica y básica (Berg et al., 2010).

La epilepsia ha sido tradicionalmente referida como un trastorno o una familia de trastornos, más que una enfermedad, debido a que esta patología abarca diversas condiciones. No obstante, el término de trastorno implica una alteración funcional que no es necesariamente de larga duración, mientras que, en términos de enfermedad, debido a su cronicidad, las funciones normales cursan por un deterioro a largo plazo. La naturaleza en la propensión duradera para generarse ha llevado a la ILAE y el IBE a considerar la epilepsia como una enfermedad, por lo que finalmente la epilepsia es definida como una enfermedad cerebral caracterizada por una predisposición duradera a generar crisis epilépticas que tiene consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales (Fisher et al., 2014; Fisher, 2015).

Esta enfermedad presenta alteraciones funcionales del sistema nervioso central, caracterizadas por un incremento y sincronización anormales de la actividad eléctrica neuronal (López-Meraz et al., 2009). La razón por la cual se genera esta actividad parece tener múltiples posibilidades con variaciones de un paciente epiléptico a otro, sin embargo, la investigación básica y experiencia clínica han propuesto algunos elementos que intervienen en la generación de descargas sincrónicas neuronales que incluyen:

1. La liberación de neurotransmisores excitatorios, en especial el glutamato.
2. El bloqueo de receptores inhibitorios del Ácido  $\gamma$ -Amino Butírico (GABA).

3. La desensibilización de receptores inhibitorios con etiología diversa (genéticas, bioquímicas e iatrogénicas).
4. El decremento del neurotransmisor inhibitorio GABA.
5. La pérdida de neuronas inhibitorias que son bastante sensibles al daño.
6. El incremento o activación de uniones electrotónicas con nuevas redes que facilitan la transmisión de un impulso por contacto interneuronal y trenes de descarga anormal excitatoria.
7. Cambios en las propiedades eléctricas de los canales iónicos sensibles a voltaje y transportadores iónicos.
8. La hiperactivación de los canales inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) de los astrocitos, causando exocitosis de glutamato hacia receptores postsinápticos excitatorios.

La generación de actividad sincrónica se manifiesta con crisis recurrentes y espontáneas que pueden ser analizadas conductual y electroencefalográficamente (López-Meraz et al., 2009; Paur & Chazot, 2007; Velasco, 2013). En el siguiente apartado se hará una descripción de la definición de estos eventos y cómo son clasificados de acuerdo a características fenomenológicas y eléctricas.

## **1.2. Crisis epilépticas y clasificación**

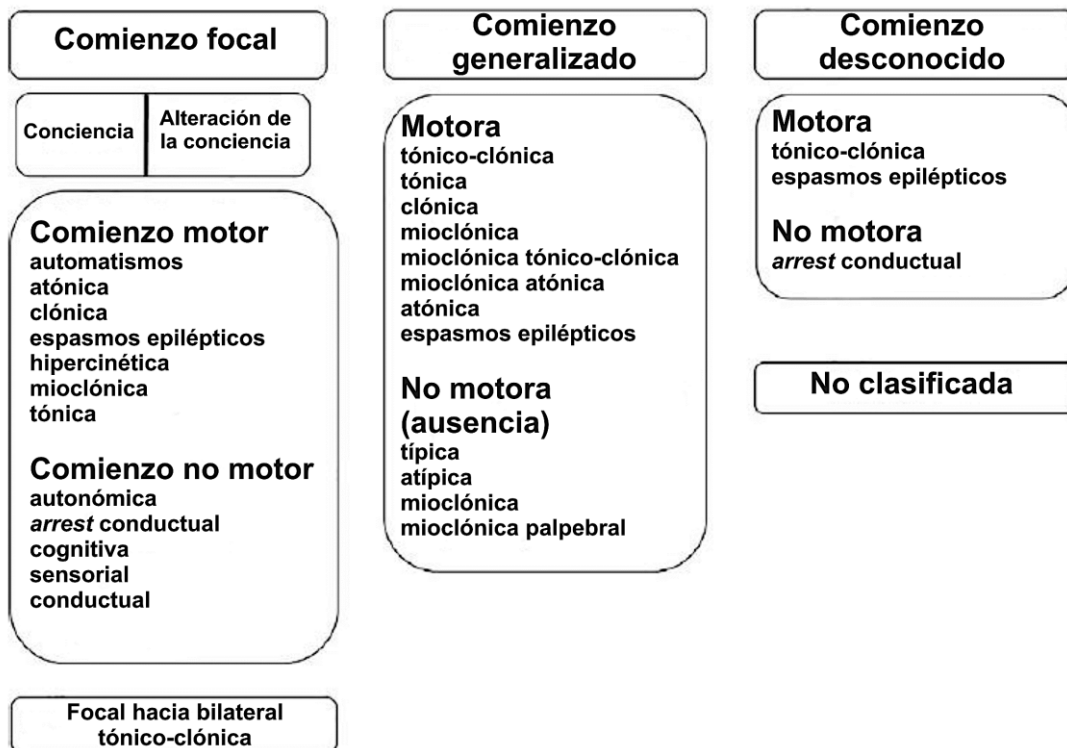
La terminología moderna emplea la palabra crisis para cualquier evento severo y repentino. La ocurrencia de eventos fisiológicos, físicos y psicológicos de la epilepsia evocan a las CE. Diversos fenómenos destacan las características de una crisis que involucran la naturaleza de su comienzo y terminación, las manifestaciones clínicas y el incremento de la sincronía neuronal. Por ello que se ha definido una CE como la ocurrencia transitoria de signos y síntomas debido a actividad neuronal anormal sincrónica y excesiva en el cerebro (Fisher et al., 2005; Fisher et al., 2014). Las manifestaciones clínicas son muy variables y dependen del área cerebral involucrada, son autolimitadas, y duran normalmente de uno a dos minutos seguidas de un período de depresión cerebral que se manifiesta por déficits neurológicos localizados (pérdida de fuerza, alteraciones sensitivas) o difusos (somnia, cansancio, agitación, delirio, cefalea, etc.) (Yusta, 2005).

La clasificación dentro del contexto de la epilepsia es una herramienta clínica clave para la evaluación de las condiciones específicas de cada paciente, proceso que influye en cada evaluación clínica y en la investigación básica para el desarrollo de nuevas terapias. La clasificación provee de un marco para comprender el tipo de crisis, la probabilidad de que otro tipo de crisis ocurra en esas condiciones individuales y su potencial desencadenamiento, de esta forma se tiene un mejor panorama de la prognosis. La clasificación también informa sobre riesgos de comorbilidad que incluyen dificultades de aprendizaje

y otros trastornos neuropsiquiátricos, la tasa de mortalidad y la selección apropiada de terapias antiepilépticas. Los principales criterios empleados son los mecanismos patofisiológicos, substratos neuronales, la respuesta a fármacos antiepilépticos (FAE), patrones de EEG ictales, patrones de propagación y características post-ictales y la presencia de un síndrome epiléptico (Engel, 2006). La clasificación básica y expandida emitida por la ILAE en 2017 se resume en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación operacional de las CE

## Clasificación de los tipos de crisis ILAE 2017



Esta versión se ha construido en la clasificación básica de las CE, no obstante, la clasificación anterior no tomaba en cuenta las subcategorías, reduciendo significativamente el marco referente de consulta. La organización vertical a partir del primer nivel de clasificación (focal, generalizado o desconocido) no es jerárquica y la especificación en el nivel de conciencia es opcional. Traducido de Fisher et al., 2017.

Las crisis son primeramente clasificadas por el tipo de comienzo. Las crisis de comienzo focal o parciales son aquellas que se originan dentro de una región o red limitada del cerebro en uno de los hemisferios. Pueden ser discretamente localizadas o ser ampliamente distribuidas en el mismo hemisferio. Las crisis de comienzo generalizado son aquellas que se originan en un punto específico pero que se propagan rápidamente de manera bilateral en redes distribuidas en todo el cerebro. Una crisis de comienzo desconocido aún puede ser definida en términos de si presenta o no componentes motores.

El siguiente nivel de clasificación comprende el nivel de conciencia en el paciente. En este contexto la conciencia es definida operacionalmente como el conocimiento de uno mismo y del ambiente, teniendo así un marcador pragmático para determinar el nivel en la pérdida de dicha capacidad en su nivel de responsividad. Durante una crisis focal la conciencia puede estar intacta y se le llama crisis focal con retención de la conciencia (antes llamada crisis parcial simple). Si el estado consciente sufre por alguna alteración durante la crisis (pérdida parcial o completa), es clasificada como crisis focal con alteración de la conciencia (antes llamada crisis parcial compleja).

Alternativamente, el grado de conciencia puede ser inespecífico, y la crisis es clasificada como crisis focal con o sin comienzo motor, asociado a la presencia de convulsiones, que son episodios de contracciones musculares anormales y excesivas y pueden ser persistentes o interrumpidas. Dentro de las crisis con comienzo motor existen los componentes: atónico (pérdida focal del tono muscular), tónico (rigidez focal sostenida), clónico (sacudidas focales rítmicas), mioclónico (sacudidas focales breves e irregulares) o de espasmos epilépticos (extensión o flexión focal de brazos y flexión del tronco). Otros componentes menos frecuentes son la actividad hipercinética (pedaleos y golpeteos) y automatismos (actividad motora más o menos coordinada y repetitiva).

En una crisis focal también se presenta cesación de movimientos sin responsividad (*arrest*). Éstas pueden ser clasificadas como crisis focales autonómicas (presencia de sensaciones gastrointestinales, de calor o frío, enrojecimiento, piloerección, palpitaciones o cambios respiratorios), crisis focales cognitivas (déficits del lenguaje, pensamiento o asociados a funciones corticales superiores), crisis focales emocionales (presencia de miedo, ansiedad, agitación, paranoia, ataques de ira, éxtasis) y crisis focales sensoriales (cambios somatosensoriales olfatorios, visuales, auditivos, gustativos o sensaciones vestibulares).

La crisis tipo focal hacia bilateral tónico-clónica es una categoría especial que reemplaza al término “crisis parcial con generalización secundaria”. En la nueva clasificación “bilateral” es usado para connotar los patrones de propagación final de las crisis y “generalizada” sólo para crisis con ese tipo de comienzo.

Las crisis de comienzo generalizado son divididas en motoras y no motoras (convulsivas o no convulsivas) y en cualquiera de sus categorías hay pérdida total de la conciencia. En caso de presentarse actividad motora, ésta debe ser de comienzo bilateral y se dividen en: 1) crisis generalizadas tónico-clónicas también llamadas crisis tipo “grand mal”, son caracterizadas por movimientos con componentes tónicos y clónicos subsecuentes. La primera fase de estas crisis es tónica seguida de la fase clónica que muestra típicamente una disminución en la frecuencia de sacudidas en el curso del evento, la pérdida de

conciencia se presenta antes o durante los movimientos de rigidez y sacudidas. 2) Las crisis generalizadas clónicas comienzan, progresan y terminan con sacudidas rítmicas sostenidas de las extremidades de forma bilateral y de cabeza, cuello, cara y tronco. 3) Las crisis generalizadas tónicas se caracterizan por la rigidez bilateral y elevación de las extremidades, frecuentemente con rigidez del cuello. También puede presentarse una postura anormal, con extensión, flexión y temblor de las extremidades. 4) Las crisis generalizadas mioclónicas pueden ocurrir en aislamiento o en conjunto de actividad tónica o atónica y se diferencian de las clónicas por ser breves y tener patrones irregulares repetitivos. 5) En las crisis generalizadas mioclónicas tónico-clónicas se presentan breves sacudidas de las extremidades y el tronco seguidas de una relegación en la actividad motora. 6) Durante las crisis atónicas existe una pérdida del tono muscular provocando la caída del paciente, sin embargo, este se recupera al poco tiempo. 7) Por último las crisis tipo espasmo epiléptico son referidas como espasmos infantiles debido a que se presentan en esa edad y se caracterizan por flexiones y extensiones o la mezcla de ambas de forma repentina en músculos proximales y troncales.

En las crisis generalizadas no motoras se categorizan las crisis de ausencia, que se presentan con una cesación súbita de la actividad y pérdida de la conciencia además de que tienden a ocurrir en grupos de pacientes jóvenes, estas crisis tienen menos automatismos que las crisis focales. Se dividen primero en crisis de ausencia atípicas cuando están asociadas a cambios en el tono, siendo más pronunciadas que las crisis de ausencia típicas, o cuando el inicio o cese de la crisis no es abrupto. Usualmente es empleado el EEG para asegurar la distinción entre crisis atípicas y típicas. Una crisis mioclónica de ausencia se refiere a una crisis que presenta movimientos mioclónicos rítmicos con elevación progresiva de los miembros superiores y asociadas con descargas tipo espiga-onda generalizadas (3 Hz). Una crisis tipo mioclónica palpebral presenta sacudidas breves de los párpados con desviación ascendente de los ojos, a pesar de que esta actividad es asociada a una ausencia también se pueden presentar crisis motoras sin alguna correspondencia haciendo difícil su clasificación.

Aquellas crisis de comienzo desconocido pueden ser categorizadas como motoras, tónico-clónicas, tipo espasmo epiléptico, no motoras o sin clasificación, esto debido a que sus patrones de propagación no pueden ser incluidos en ningún otro tipo de crisis o porque no existe la suficiente información para permitir su categorización (Blume-Chair, Lüders, Mizrahi, Tassinari, Emde & Engel, 2001; Fisher et al., 2017).

Las crisis frecuentemente son delimitadas en tiempo, dependiendo de los períodos ictal (durante una crisis), interictal (entre crisis) y post-ictal (después de una crisis) que las conforman, presentando diferencias dramáticas en su

actividad. Así, de forma simultánea a la manifestación clínica de las CE también es posible obtener registros de la actividad eléctrica anormal mediante EEG, brindando una poderosa herramienta que refleja la dinámica de los potenciales eléctricos asociada a un componente conductual específico. Los clínicos utilizan los patrones EEG para identificar, clasificar, cuantificar y localizar crisis. Los estudios mediante EEG registran típicamente los cambios interictales debido a la naturaleza paroxismal de la enfermedad sirviendo de ayuda en el diagnóstico de la epilepsia. En los registros durante la actividad ictal es esencial una pre-evaluación del paciente con el fin de localizar la zona epileptogénica y el sitio de propagación inicial. El término epileptiforme es usado para connotar la morfología EEG de actividad asociada al comienzo, mantenimiento y terminación de CE (Cascino, 1996; Fisher, Scharfman & Curtis, 2014).

Existen patrones comunes asociados a la presencia de CE, siendo la morfología tipo espiga la más típica. Las espigas son definidas como potenciales que sobresalen del registro basal con una duración de entre 30 y hasta 70-80 ms con un pico y caída de voltaje asimétrico seguido de una onda lenta. Las espigas pueden ser focales o generalizadas a través de amplias regiones en el cerebro de forma bilateral y su recurrencia rítmica seguida de ondas lentas es referida como actividad tipo espiga-onda. El registro EEG del cuero cabelludo en un humano durante una CE puede tomar al menos cinco diferentes formas (figura 1).


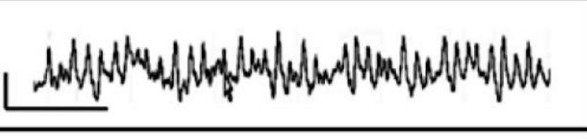
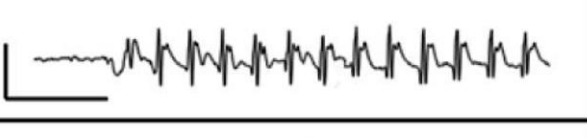
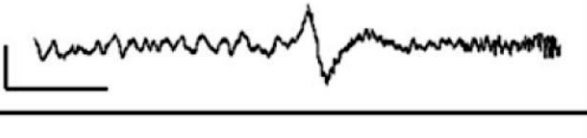
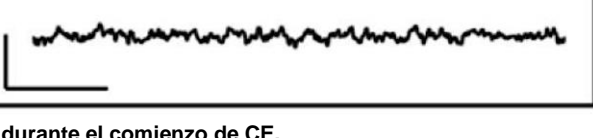
<b>Trazos rítmicos que involucran las frecuencias de la banda teta, delta y alfa.</b>	
<b>Espigas rítmicas</b>	
<b>Espiga-onda</b>	
<b>Electrodecremento (caída de voltaje)</b>	
<b>Crisis clínica pero sin cambios claros en el EEG</b>	

Figura 1. Patrones electroencefalográficos comunes durante el comienzo de CE.  
Traducido de Scharfman & Buckmaster, 2014.

El primer patrón es rítmico y abarca frecuencias en la banda teta (4-7 Hz), delta (0-3 Hz) o alfa (8-12 Hz). La actividad de este tipo puede presentar varios

grados de amplitud, aunque las espigas y la actividad de puntas y ondas no son requeridas para ser parte del patrón rítmico de una crisis. El segundo patrón es la presencia de espigas rítmicas, observadas más comúnmente en crisis hipocampales y estructuras vecinas. El tercer componente espiga-onda ocurre típicamente durante las crisis generalizadas de ausencia, en crisis focales y en el curso de crisis generalizadas tónico-clónicas. El cuarto componente de electrodecremento refiere a una reducción general de los ritmos cerebrales al comenzar una crisis, estos patrones son comunes en crisis tónicas, atónicas y algunas veces tónico-clónicas. El segmento que presenta electrodecremento tiene una baja amplitud, pero alta frecuencia, actividad que es asociada con los rangos de oscilaciones de alta frecuencia (HFO por sus siglas en inglés, *High Frequency Oscillations*), los cuáles son marcadores de la región de comienzo en las crisis. Por último, el quinto patrón electrográfico refiere a un registro sin cambios aparentes y debe ser correlacionado con la actividad clínica conductual (Scharfman & Buckmaster, 2014).

### **1.3. Síndromes epilépticos y clasificación**

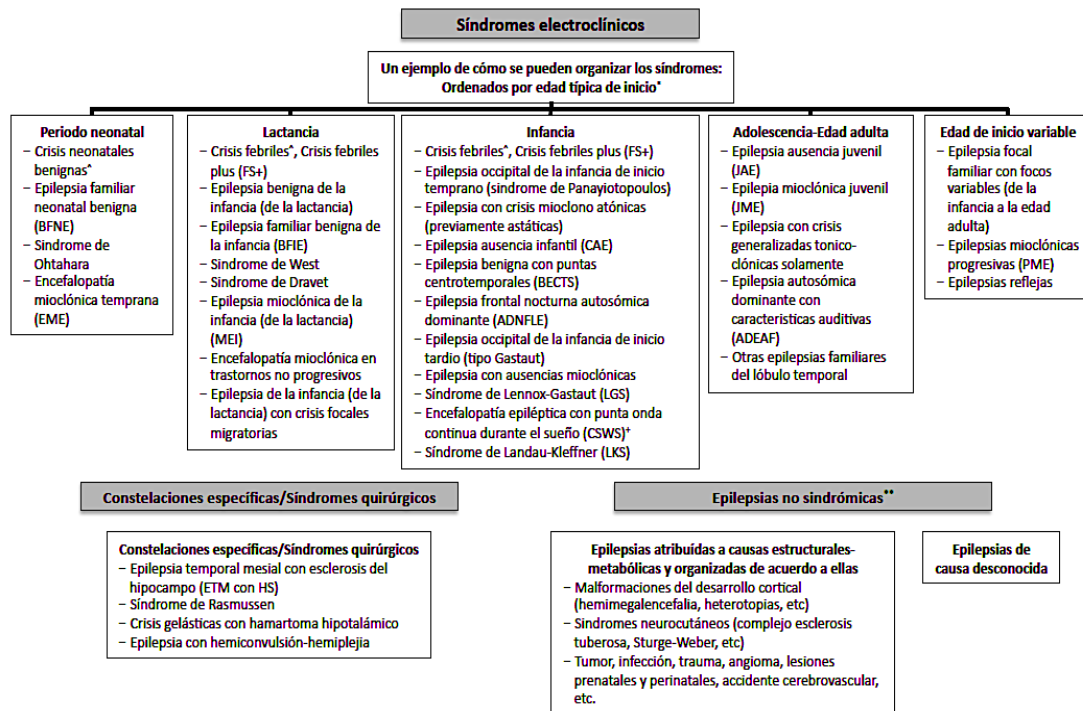
Las epilepsias y los síndromes involucran la existencia de una anormalidad epileptogénica intrínseca que resulta en la aparición de CE, independientemente del daño o condición. Esta propiedad también es responsable de que la actividad convulsiva se presente durante un período de tiempo relativamente corto, durante muchos años o incluso a lo largo de la vida. Un síndrome epiléptico es un complejo de signos y síntomas que definen una condición epiléptica específica, tales características implican el tipo de crisis, patrones EEG y de neuroimagen, el substrato anatómico comprometido, alteraciones dependientes de la edad de inicio, la base genética de su origen, historia familiar, condiciones socioeconómicas y la presencia de comorbilidad con disfunciones psiquiátricas e intelectuales. Cabe destacar que un síndrome epiléptico no necesariamente tiene una correlación positiva con un diagnóstico etiológico, por ello sirve como clasificador diferencial, incluyendo más factores en el diagnóstico. Básicamente a los síndromes epilépticos se les denomina sintomáticos cuando resultan de una o más alteraciones patológicas identificables en la estructura o metabolismo cerebral, e idiopáticos cuando no existe una alteración contundente y su etiología primaria se cree es genética (Engel, 2006; Scheffer et al., 2017; Yusta, 2005).

No todos los síndromes pueden ser fácilmente clasificados como focales o generalizados, o cómo sintomáticos o idiopáticos, por lo cual se reemplazan características específicas del síndrome para el diagnóstico. De esta forma se pueden clasificar en epilepsias focales sintomáticas, epilepsias focales familiares (autosómicas dominantes), epilepsias idiopáticas focales de la infancia y la niñez, epilepsias generalizadas idiopáticas, epilepsias reflejas,



encefalopatías epilépticas, epilepsias mioclónicas progresivas y crisis que no requieren necesariamente del diagnóstico de epilepsia. El término “epilepsia criptogénica” refiere a un síndrome sintomático, pero del cual la etiología es desconocida (Engel, 2006; López-Meraz et al., 2009; Shorvon, 2011). La tabla 2 muestra la organización de los síndromes epilépticos de acuerdo a la edad de inicio y las condiciones relacionadas, propuesta por la ILAE en 2010.

Tabla 2. Clasificación de los síndromes epilépticos de acuerdo a la edad de inicio



\* La ordenación de los síndromes electroclínicos no refleja la etiología  
 ^ No diagnosticadas tradicionalmente como epilepsia  
 + Algunas veces denominado estatus epiléptico eléctrico durante el sueño lento (ESES)  
 \*\* Formas de epilepsia que no cumplen criterios para síndromes específicos o constelaciones

Modificado de ILAE., Berg & Cross, 2010.

La etiología presenta implicaciones básicas para el tratamiento. Un paciente con epilepsia puede ser clasificado dentro de más de una categoría etiológica, tales categorías no son jerárquicas y la importancia que adquieren depende también de las circunstancias diagnósticas. La etiología de un síndrome epiléptico se puede clasificar básicamente en:

1. Etiología estructural: génesis en una anomalía estructural que presenta un alto riesgo de provocar CE. La etiología de este tipo puede ser adquirida como resultado de un derrame cerebral, trauma e infección o por malformaciones genéticas corticales.
2. Etiología genética: como resultado de una mutación genética, en la cuál las crisis son el síntoma clave de la enfermedad y donde la mayoría de los genes implicados en la condición son aún desconocidos.

3. Etiología infecciosa: es la etiología más común donde la epilepsia ocurre como resultado de una infección bacteriana, vírica o micótica, provocando la aparición de CE en la fase aguda de la enfermedad.
4. Etiología metabólica: un rango de desórdenes metabólicos que son asociados con epilepsia, los cuáles generan cambios bioquímicos a través del cuerpo, incluyendo al cerebro, resultando en la aparición de crisis.
5. Etiología Inmunológica: la epilepsia es resultado directo de un desorden inmune y frecuentemente se conceptualiza como un proceso inflamatorio autoinmune del sistema nervioso central. El diagnóstico en este tipo de etiología se ha visto incrementado, particularmente por el acceso a test de anticuerpos.
6. Etiología desconocida: la causa del síndrome epiléptico no se conoce aún, y la posibilidad de un diagnóstico queda relegada a la semiología electro-clínica (Scheffer et al., 2017).

Conocer la fisiopatología del síndrome epiléptico es de vital importancia para llevar a cabo un registro EEG dirigido, esto es, realizarlo bajo condiciones que desencadenen o faciliten las descargas, haciéndolas evidentes. La definición de síndrome epiléptico basada en características electro-clínicas facilita la práctica médica y la investigación en grupos homogéneos de pacientes con epilepsia, siendo el EEG una herramienta necesaria para el diagnóstico. Los protocolos estándar están conformados generalmente por: 1) una descripción general del síndrome, 2) una descripción de los síntomas y semiología del síndrome, 3) hallazgos en patrones paroxismales durante los períodos de vigilia y sueño y en las fases interictales e ictales de las crisis, 4) sumación de metodologías y técnicas que permitan un mejor registro de la actividad y otras características electrográficas particulares del síndrome en cuestión y 5) el diagnóstico EEG que comprende un diagnóstico clínico confirmatorio, altamente probable o medianamente probable (Koutroumanidis et al., 2017; Velasco, 2013).

Los síndromes epilépticos no sólo están definidos por sus características moleculares, genéticas, anatómicas o EEG. El contexto socioeconómico y psicológico también está relacionado con la aparición de CE, condicionando la calidad de vida del paciente y de quienes le rodean.

Ha existido una constante preocupación sobre el progreso en el manejo de la epilepsia centrado en el control médico, el desarrollo de nuevos FAE y particularmente el proceso de ajuste social en los individuos. Tradicionalmente los resultados en las condiciones de salud se han medido en términos de mortalidad, no obstante, nuevos índices se han desarrollado, incluyendo ahora términos de funcionamiento social que provee de un nuevo marco de referencia. La epilepsia resulta frecuentemente en un cambio de inclusión

social, condición que presenta varias connotaciones como la participación, capacidad de desarrollo, incremento de bienestar social, así como la capacidad de ser activamente incluido por otros, hacer contribuciones económicas, psicológicas y políticas. Dependiendo de la edad, los episodios epilépticos son repentinos y peligrosos, incrementando el riesgo de daño, hospitalización y en algunos casos muerte repentina, interfiriendo significativamente en las actividades del paciente. El insuficiente conocimiento del padecimiento eventualmente resultará en un tratamiento inapropiado, posible discapacidad física y la exclusión social. En países de Latinoamérica, la epilepsia es percibida en un 54.2% desde una postura de discriminación, 70.8% observa que hay estigmatización y es percibida con miedo. Contrario a ello sólo el 29.9% de la población percibe a la enfermedad con comprensión y 12.5% con empatía. Frecuentemente los desajustes en tales esferas de desarrollo provocan la coexistencia en el paciente de trastornos neuropsiquiátricos como la aparición de ansiedad interictal, desorden de ansiedad generalizada y depresión. Muchos de los síndromes presentan disfunciones intelectuales y de aprendizaje además de cursar con trastornos neurológicos como trastorno del espectro autista, trastornos del sueño, déficits motores y desórdenes gastrointestinales. Estos factores determinan en los pacientes las oportunidades de desarrollo, por ello que presentan menores niveles de educación y su población tiene altos índices de desempleo (de Boer, Mula & Sander, 2008; García-Morales, Gil-Nagel, de Rosendo & Torres-Falcón, 2014; Kwan, Yu, Leung, Leon & Mychaskiw, 2009; Mlinar, Petek, Cotic, Ceplak & Zaletel, 2016; Scheffer et al., 2017; OPS, 2013).

La inclusión social es un elemento importante de la calidad de vida para los pacientes con epilepsia. Investigaciones recientes han reportado que el estigma social por el que pasan estas personas contribuye a incrementar la presencia de psicopatología, disminución del contacto y de capital social. El aislamiento favorecerá la aparición de conductas antisociales, empeorando significativamente la enfermedad y la prognosis de ésta. La epilepsia afecta con mayor frecuencia a personas que se encuentran en edad productiva, generando limitaciones en sus posibilidades económicas reduciendo el marco de oportunidades para el tratamiento de la enfermedad, con un escenario aún más desfavorable para los pacientes que presentan epilepsia refractaria, donde las terapias más comunes no son una opción y los costos para ello se ven incrementados significativamente. Los costos pueden distinguirse entre: 1) costos directos (aquellos que implican los gastos médicos de prevención, tratamiento y rehabilitación, y los no médicos como gastos de servicio y familiares), 2) costos indirectos (pérdida de ganancias debido al desempleo y exceso de mortalidad) y 3) costos intangibles (alteraciones progresivas en la calidad de vida, aislamiento social, dolor y estigma). El IMSS ha reportado que en México el costo anual del tratamiento para pacientes con epilepsia refractaria es de aproximadamente \$2.646, en costos ambulatorios es de

\$2.017 y al requerir hospitalización aumentan hasta los \$3.483 y \$5.500. Las consultas médicas son la principal carga económica representando un 39%, seguido de FAE con 24%, días de hospitalización 21%, estudios que no implican laboratorio 15% y estudios de laboratorio 1%.

En muchos países de ingresos bajos y medianos la disponibilidad de FAE es baja con acceso en el sector público inferior al 50%, denominándose “brecha terapéutica”. Tales problemáticas instan a la investigación a enfocarse en aspectos individuales de la epilepsia, en gran medida en la calidad de vida de quien la padece y específicamente factores determinantes como discriminación, oportunidades de empleo, condiciones psiquiátricas, estilo de vida y la condición epiléptica actual (Begley & Beghi, 2002; Couras, Rocha da Cruz, Neves & Andrade, 2012; García-Contreras et al., 2006; Mlinar et al., 2016; OMS, 2017; Pachlatko, 1997).

Epidemiológicamente se ha observado que los síndromes epilépticos están asociados en su mayoría a una localización cerebral específica (Dong et al., 2014; Picot et al., 2008). Dentro de los síndromes epilépticos sintomáticos se ha observado que la iniciación de las crisis se presenta principalmente en regiones temporales y frontales, las cuáles manifiestan en mayor proporción crisis de origen focal hacia bilateral tónico-clónica (crisis parcial con generalización secundaria) (Banerjee, Filippi & Hauser, 2009; Medina et al., 2005; Oka, Ohtsuka, Yoshinaga, Murakami, Kobayashi & Ogino, 2006).

En estructuras mesiales del lóbulo temporal se han reportado la mayor cantidad de patologías asociadas a la aparición de CE con etiologías diversas tales como el desarrollo de tumores de bajo grado, accidentes cerebrovasculares, displasia cortical focal, encefalitis mitocondrial, encefalitis viral, encefalitis de Rasmussen o límbica, etc (Villasana, 2014).

La epilepsia asociada a la activación de un foco epileptógeno en estructuras temporales se le llama ELT. Se le considera un síndrome epiléptico adquirido multifactorial que se asocia con lesiones como la esclerosis hipocampal (EsCH), tumores, traumatismos, malformaciones vasculares y plasticidad neuronal o excitabilidad celular anómala, siendo este el tipo de epilepsia que presenta la mayor probabilidad de farmacorresistencia. Esto resulta en efectos deletéreos importantes en la calidad de vida del paciente con factores de pronóstico frecuentemente desfavorables (Herrera-Peco, Fernández-Millares, Pastor, Hernando-Requejo, Sola & Alonso-Cerezo, 2009; Kwan & Brodie, 2000). En el siguiente apartado se hará una descripción de las características principales de este síndrome, enfocándose en la fisiopatología y el porqué del difícil control de las crisis que se presentan.

### **1.3.1. Sobre la epilepsia del lóbulo temporal**

La gran mayoría de los casos de crisis corresponden a la ELT, siendo el síndrome epiléptico más frecuente en los adultos, representando entre el 25% y 35% de los casos generales de epilepsia. Además, entre el 60% y 70% de las epilepsias de inicio focal que presentan farmacorresistencia corresponden a la ELT. El sustrato que la caracteriza es un foco epileptogénico adscrito a estructuras temporales mesiales (área límbica mesiobasal o rinencefálica y del área temporal lateral) como el complejo amigdalino, el hipocampo, el giro hipocampal, corteza entorrinal (CxEn), corteza piriforme (CxPir) y cuya anomalía anatómica más habitual, por la presencia de una lesión cerebral temprana, es la EsCH (Engel, 1996; López-Hernández & Solís, 2012; Pereno, 2010; Téllez-Zenteno & Hernández-Ronquillo, 2012; Volcy-Gómez, 2004).

Los tipos de ELT pueden clasificarse en función del área afectada en: 1) ELT mesial (ELTM) con esclerosis del hipocampo que se caracteriza por la pérdida de neuronas en las zonas del *Cornu de Ammonis* (CA) 1, giro dentado (GD) e hilus, 2) ELTM sin esclerosis del hipocampo, 3) ELT focal lateral, que se caracteriza por trastornos de lenguaje, alucinaciones auditivas complejas, etc, y por último 4) ELT familiar autosómica dominante, que se caracteriza por auras auditivas y crisis tónico-clónicas (Herrera-Peco et al., 2009).

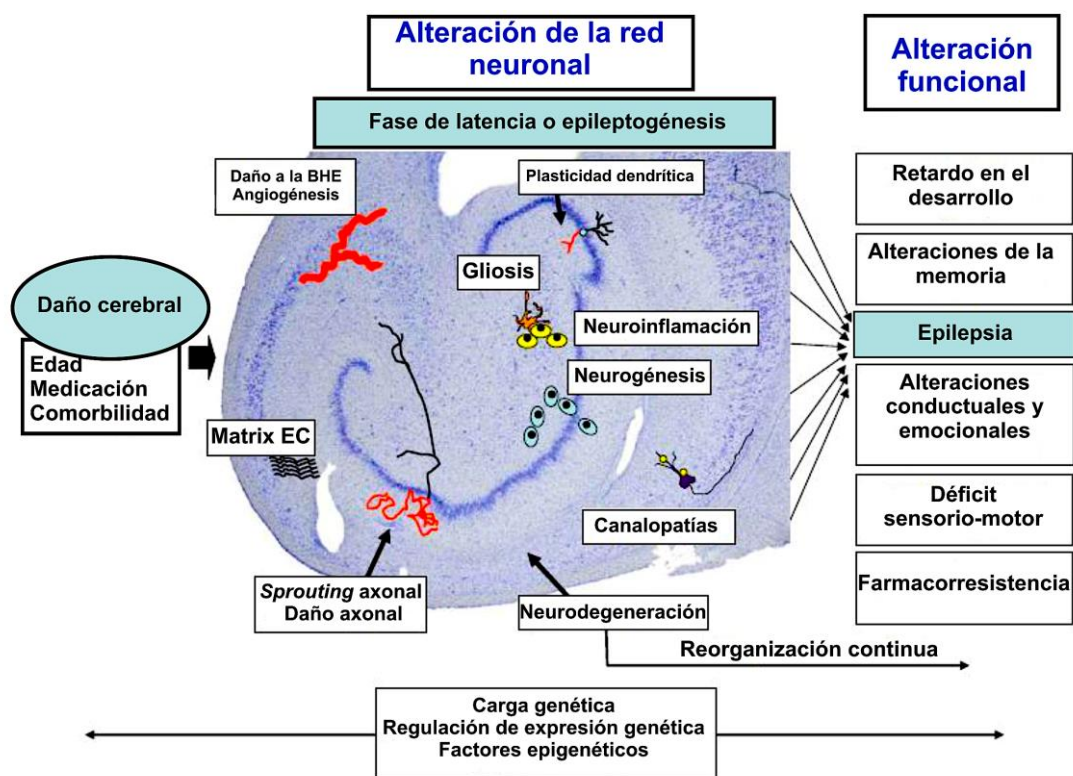
A pesar de que las CE tienen un inicio focal en estructuras del sistema límbico, alrededor de un 50% de los pacientes pueden presentar crisis bilaterales tónico-clónicas que no son homogéneas debido a la propagación eléctrica extensa a través de diferentes vías entre las cuales se encuentran estructuras subcorticales como los ganglios basales y estructuras talámicas, siendo el desarrollo de este tipo de crisis el principal factor de riesgo para daño neuronal (Bone, Fogarasi, Schulz, Gyimesi, Kalmar, Kovacs, Ebner & Janszky, 2012; Volcy-Gómez, 2004). Durante el curso de este síndrome suceden una serie de eventos bioquímicos, morfológicos y eléctricos de carácter progresivo que componen una reorganización celular de los circuitos límbicos, dando lugar a CE de mayor severidad, disfunciones emocionales y cognitivas, así como el desarrollo de farmacorresistencia.

#### **1.3.1.1. Fisiopatología de la epilepsia del lóbulo temporal**

En el curso evolutivo de la ELT existe un intervalo de tiempo que se caracteriza por estar libre de CE, tal período, desde la aparición del daño cerebral hasta el comienzo de la epilepsia sintomática, puede durar meses o años. Se ha aceptado la hipótesis de que durante este período latente ocurre una serie de mecanismos celulares, estructurales y funcionales que alteran un cerebro normal para convertirse en un cerebro epiléptico, resultando en la aparición de

crisis espontáneas recurrentes y dejando al paciente en un estado de epilepsia crónica, denominándose a este proceso epileptogénesis, como se muestra en la figura 2. Esta reorganización de los circuitos cerebrales incluye pérdida neuronal, cambios en la expresión de canales sensibles a voltaje, de receptores, alteraciones metabólicas, procesos inmunológicos y gliosis.

La progresión de la epilepsia incluye tanto el incremento en la frecuencia de las crisis como el agravamiento de las anomalías funcionales que las provocan, esto influenciado por múltiples factores endógenos y exógenos (Blauwblomme, Jiruska & Huberfeld, 2014; Löscher & Brandt, 2010; Pitkänen, Kharatishvili, Karhunen, Lukasiuk, Immonen, Nairismäji, Gröhn & Nissinen, 2007).



**Figura 2. Alteraciones celulares que ocurren durante el proceso de epileptogénesis.**

Varios tipos de daño pueden desencadenar un proceso epileptogénico como EsCh, tumores, traumatismos, malformaciones vasculares o derrames cerebrales, y sus efectos son dependientes de la edad de inicio, de esquemas farmacológicos y de comorbilidad neuropsiquiátrica. Las alteraciones celulares y su distribución temporal están mejor caracterizadas en el hipocampo. Como consecuencia, en los distintos cambios funcionales se pueden desarrollar problemas de memoria, alteraciones conductuales y emocionales, déficits sensorio-motores y problemas en el desarrollo que provocan una reorganización celular de los circuitos neuronales, culminando en crisis espontáneas recurrentes, tal condición puede generar epilepsia refractaria. Durante el proceso epileptogénico, estas alteraciones están sujetas a la modulación de factores genéticos y epigenéticos. Traducido de Pitkänen & Lukasiuk, 2009.

### **1.3.1.1.1. Bases moleculares y morfológicas de las alteraciones celulares en la ELT**

#### *1.3.1.1.1.1. Neurodegeneración*

El proceso de neurodegeneración es probablemente una de las alteraciones mejor descritas en el curso de la epileptogénesis. Este fenómeno se adscribe básicamente a regiones hipocampales como lo son el hilus del GD, las células de la capa piramidal del CA1 e interneuronas y se observa de forma moderada en la capa piramidal de CA3, CA2 y en células granuladas. También se han descrito procesos de neurodegeneración en estructuras vecinas como la amígdala (AM) y la periferia de las CxEn, perirhinal (CxPer) y parahipocampal, además de estructuras extratemporales que incluyen el tálamo y cerebelo. Estos cambios están caracterizados por una pérdida progresiva neuronal y por alteraciones en la morfología celular.

Los pacientes afectados por la ELT presentan patrones variables de pérdida neuronal y en particular, esta alteración puede ser clasificada en 5 diferentes patrones: 1) estructura hipocampal sin pérdida significativa neuronal o sin esclerosis (18%); 2) pérdida celular severa en CA1 y pérdida moderada en todas las regiones del hipocampo excepto en CA2 (19%); 3) extensa pérdida neuronal en todas las capas hipocampales (53%); 4) pérdida neuronal severa restringida a CA1 (6%) y 5) pérdida neuronal severa restringida a la región hilar (4%). Además de estos cambios también se han reportado patrones parciales de pérdida neuronal adscritos a la región subicular, aunque no es menos frecuente.

La pérdida en la densidad neuronal no es el único evento que caracteriza a la ELT, cambios morfológicos también han sido reportados. Específicamente se han visto cambios en el tamaño del soma celular, número de dendritas y densidad espinal. En particular la presencia de neuronas subiculares con una reducida arborización y densidad espinal en la parte proximal de las dendritas apicales sugiriendo un efecto de desaferenciación parcial de CA1, además los cuerpos celulares amigdalinos se ven reducidos e incrementan la densidad de espinas por segmento dendrítico. Las alteraciones en dendritas son caracterizadas por la bifurcación espinal, lo que sugiere cambios en la conectividad sináptica (Bengzon, Kokaia, Elmér, Nanobashvili, Kokaia & Lindvall, 1997; Curia, Lucchi, Vinet, Gualtieri, Marinelli, Torsello, Constantino & Biagini, 2014; Pitkänen & Lukasiuk, 2009).

#### 1.3.1.1.1.2. Neuroinflamación

El proceso de inflamación ocurre como respuesta a un daño en los componentes celulares (como la pérdida neuronal), provocando alteraciones en la vascularización de vasos sanguíneos. Por ello que este proceso se ha reportado como un factor importante en la iniciación y mantenimiento de las crisis en la ELT. Durante este evento se ve un incremento de la actividad microglial y de astrocitos reactivos que desencadenan la liberación de citocinas inflamatorias, alterando la excitabilidad neuronal mediante efectos de señalización catalítica intracelular. Ambos tipos celulares pueden liberar citocinas del tipo interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6 y factor de necrosis tumoral (TNF) $\alpha$ , que pueden activar cascadas de señalización involucradas en la muerte neuronal y la proliferación celular. Estos procesos provocan una gran red de reorganización asociada al desarrollo de la epilepsia crónica. Específicamente, se ha reportado que los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF $\alpha$  se ven incrementados en pacientes con ELT después de presentarse crisis de inicio focal hacia bilateral tónico-clónicas, sugiriendo que los efectos inflamatorios aumentan durante el estado post-ictal, incrementándose la posibilidad de desarrollar una lesión esclerótica (Bauer, Cepok, Todorova-Rudolph, Nowak, Köller, Lorenz, Oertel, Rosenow, Hemmer & Hamer, 2009; Curia et al., 2014; Li, Bauer, Nowak, Norwood, Tackenberg, Rosenow, Knake, Oertel & Hamer, 2011).

#### 1.3.1.1.1.3. Gliosis

Las células gliales (astrocitos, microglia y oligodendrocitos) pueden contribuir al proceso de epileptogénesis de varias maneras. Los astrocitos regulan los niveles extracelulares de potasio (K<sup>+</sup>) así como la captura y concentraciones extracelulares de glutamato a través de los transportadores EAAT1 y EAAT2, siendo activos en el metabolismo y síntesis de varias moléculas, entre ellas también están los mediadores inflamatorios, esto durante la fase temprana post-daño cerebral. En la ELT los astrocitos reducen su actividad para remover el glutamato y K<sup>+</sup> extracelular, incrementando la excitabilidad neuronal, además de reducir los procesos de síntesis de citocinas pro-inflamatorias y aumentando su liberación. Se ha reportado una disminución de transportadores específicos de glutamato en las regiones de CA1, CA2 y CA3 al incrementarse la enzima adenosina quinasa que interfiere con la liberación de adenosina en los transportadores, dejando altos niveles glutamatérgicos extracelulares. También se ha visto disminución de la actividad enzimática GS, inhibiendo los procesos de degradación glutamatérgica. El hecho de que existan altos niveles de este neurotransmisor excitatorio está directamente asociado a la sincronización de disparos neuronales hipocámpales.



La microglia es extremadamente sensible, secretando grandes cantidades de citocinas e inclusive factores de crecimiento neurotrófico como el factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF), teniendo también un papel activo en los procesos de reorganización celular a través de la proliferación neuronal. La actividad de los oligodendrocitos aún es controversial, no obstante se ha propuesto que interviene alterando el proceso de mielinización neural mediante la facilitación del potencial de acción, esto como respuesta al daño neuronal ocasionado por las CE, además se ha observado una disminución de la enzima anhidrasa carbónica lo que altera los niveles extracelulares de cloro ( $\text{Cl}^-$ ) y  $\text{K}^+$  (Blauwblomme, Jiruska & Huberfeld, 2014; Coulter & Steinhäuser, 2015; Curia et al., 2014; Eyo, Murugan & Long-Jun, 2017; Luo, Ikegaya & Koyama, 2016; Pitkänen & Lukasiuk, 2009; Velasco, 2013).

#### 1.3.1.1.1.4. Neurogénesis: crecimiento axonal y plasticidad dendrítica

El proceso de neurogénesis involucra la proliferación, migración y diferenciación de los neuroblastos e integraciones sinápticas de nuevas neuronas con los circuitos previamente establecidos. La neurogénesis en adultos es un proceso que está bien definido en zonas subgranulares del GD en el hipocampo. Las nuevas células granuladas envían sus proyecciones axonales hacia la vía de las fibras musgosas del hipocampo y desarrollan propiedades electrofisiológicas similares a otras células granuladas, siendo mayormente excitables. Se ha observado que se presenta un incremento de neurogénesis en el GD después de presentarse crisis recurrentes y que se asocia principalmente a procesos de migración celular anómalos en la zona hilar y la capa molecular.

Éstas proyecciones aberrantes exhiben una integración patológica con las redes celulares del área CA3 y establecen conexiones aferentes adicionales con las fibras terminales musgosas. Se ha sugerido que la neurogénesis retardada por los procesos inflamatorios podría interferir con la migración celular, dejando una dispersión significativa de los nichos neurogénicos de las células granuladas en locaciones ectópicas, estableciendo nuevas conexiones. La mayoría de éstas células ectópicas se encuentran en nichos a lo largo del eje septal y temporal. Este circuito de redes excitatorias induce hiperexcitabilidad en el hipocampo, incrementando los disparos rítmicos tipo ráfaga en las células piramidales de CA3, de esta forma aparecen las crisis espontáneas y se desarrolla la epilepsia crónica (Curia et al., 2014; Koyama, 2016; Kuruba, Hattiangady & Shetty, 2009).

Otro fenómeno presente es el brote de colaterales (denominado generalmente como *sprouting*) de las fibras musgosas que se ha observado en pacientes con ELT, caracterizado por el aumento de crecimientos filopodiales en la capa polimórfica del hipocampo. Estas ramificaciones colaterales frecuentemente

proyectan hacia la capa molecular interna y proveen de sinapsis excitatorias a las dendritas de células granuladas para crear así circuitos excitables reverberantes, hallazgos que se han correlacionado con la progresión en la frecuencia y severidad de las CE.

Se ha sugerido que las cascadas de señalización activadas por BDNF y el factor de crecimiento nervioso (NGF) inducen grandes crecimientos dendríticos de las fibras musgosas en el hilus del GD mediante la unión a los receptores tirosina quinasa (Trk)A, TrkB, TrkC y p75, que activa las proteínas Janus Quinasa y transductoras de señales y activadoras de transcripción (JAK-STAT), la proteína quinasa C (PKC) y la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), resultando en una regulación a la baja de las subunidades  $\alpha 1$  del receptor GABA<sub>A</sub> que interfiere así con la inhibición de las células excitatorias (Curia et al., 2014; Koyama, 2016; Scharfman & Buckmaster, 2014; Siebzehnruhl & Blumcke, 2008).

En el tejido de pacientes con crisis recurrentes se ha reportado *sprouting* de los axones colaterales de las células piramidales de CA1. Estas fibras se extienden desde el stratum radiatum del área CA3 y hacia el *subiculum*, mientras que las fibras de CA3 proyectan recíprocamente a CA1, *subiculum*, *presubiculum* y *parasubiculum* y hacia la CxEn medial y lateral. Desde esta misma corteza, los axones se extienden hacia la CxPer y AM, donde la porción basolateral proyecta hacia el *subiculum* ventral. Durante el período crónico de la epilepsia también se han visto una reorganización aberrante axonal de interneuronas GABAérgicas, éstas forman contactos sinápticos simétricos que se proyectan hacia las dendritas de las células granuladas, sin embargo no reciben el *input* normal de las otras neuronas, que es requerido para una eficiente inhibición del tipo *feed-back*, esto probablemente por la reorganización de las células excitatorias y una menor densidad sináptica perisomática de las interneuronas, lo que finalmente ocasiona serias consecuencias en las propiedades integrativas inhibitorias de las células principales del hipocampo (Curia et al., 2014; Scharfman & Buckmaster, 2014, Scharfman, 2006).

#### 1.3.1.1.1.5. Angiogénesis

Un daño a la barrera hemato-encefálica y la consecuente expresión de factores angiogénicos, proliferación de células endoteliales y angiogénesis son características comunes de la ELT, procesos que son importantes en la regulación, transporte, metabolismo y funciones inmunológicas de varios compuestos en el cerebro (incluidos los FAE). Las lesiones ocasionadas por las CE inducen neuroinflamación, provocando el aumento en los niveles de citosinas inflamatorias y factores neurotróficos como la IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , el factor de crecimiento tumoral (TGF) $\beta$  e interferón- $\gamma$ , lo que ocasiona la

activación de proteínas de crecimiento vascular como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en el hipocampo (CA3) que se une a receptores Trk.

Las nuevas vascularizaciones tienden a resultar en alteraciones de la barrera hemato-encefálica por una pérdida de uniones ocluyentes o *tight junctions* de las células epiteliales, dejando escapar iones (principalmente aumento de K<sup>+</sup> extracelular) y proteínas al ambiente extracelular neuronal, exacerbando de esta forma los procesos inflamatorios y la actividad astrocítica. La unión del VEGF a su receptor VEGF-R2 activa las proteínas STAT3 regulan la JAK-STAT, receptores IP3 de calcio (Ca<sup>2+</sup>) y la fosfolipasa tipo C, modificando la responsividad de la membrana a la matriz extracelular (MMP-9 y MMP-2) y proteínas de fosforilación intracelular involucradas en la expresión de receptores, proliferación y migración neuronal. Este ciclo de retroalimentación positiva culmina en los procesos de reorganización en los circuitos, haciéndolos fácilmente excitables (Benini, Roth, Khoja, Avoli & Wintermark, 2016; Curia et al, 2014; Lange, Storkebaum, Ruiz, Dewerchin & Carmeliet 2016; Marchi & Lerner-Natoli, 2013; Morin-Brureau, Rigau & Lerner-Natoli, 2012; Rigau et al., 2007).

El conjunto de alteraciones funcionales en las neuronas eventualmente presenta repercusiones en sus propiedades electroquímicas, caracterizadas por un desbalance entre excitación/inhibición, siendo este fenómeno la principal anomalía que caracteriza a la ocurrencia de CE.

#### **1.3.1.1.2. Desbalance excitación/inhibición en la ELT: alteraciones químicas y electrofisiológicas**

Los procesos de reorganización molecular y morfológica resultan en modificaciones de la neurotransmisión y excitabilidad celular. Por un lado, la intensa proliferación de axones aberrantes de las células granudas y la reinervación de espinas dendríticas y por otro la pérdida neuronal selectiva, principalmente interneuronas, las cuales constituyen la fuente principal de control en la excitabilidad de células piramidales. Ambos tipos de neurotransmisión, glutamatérgica y GABAérgica, inciden en el desarrollo de crisis espontáneas.

##### *1.3.1.1.2.1. Alteraciones asociadas a la neurotransmisión glutamatérgica*

Estudios realizados en el foco epiléptico de pacientes con ELT han reportado alteraciones en la neurotransmisión excitatoria, siendo el glutamato el principal neurotransmisor excitador. Al ser liberado, el glutamato puede unirse a los receptores ionotrópicos N-Metil-D-Aspartato (NMDA) y el receptor Ácido  $\gamma$ -

Amino-3-Hidroxi-5-Metil-4-Isoxazolpropiónico (AMPA), generándose así una serie de potenciales post-sinápticos excitatorios (PPE) que reclutan grupos de neuronas vecinas y se suman para sincronizarse.

La participación de estos receptores en la epilepsia se ha comprobado al utilizar antagonistas farmacológicos selectivos, los cuales terminan por disminuir o suprimir totalmente la actividad epiléptica. También se ha reportado que ambos receptores tienen implicaciones distintas en las crisis, específicamente AMPA se ha vinculado a las descargas rápidas neuronales que inician con la actividad epileptiforme, mientras que los NMDA están asociados a una activación más lenta y se vinculan al mantenimiento de las crisis. Por ello se ha sugerido que las descargas epilépticas son generadas por las propiedades excitables intrínsecas neuronales, siendo iniciadas y propagadas sincrónicamente por conexiones colaterales recurrentes excitatorias que involucran primariamente a la actividad de alta frecuencia. Los cambios electrofisiológicos más significativos asociados a la epilepsia se han encontrado en el hipocampo, específicamente en las células granudas del GD, las cuáles son capaces de generar potenciales sinápticos dependientes de NMDA en forma prolongada, mientras que la conductancia de los receptores AMPA es normal. No obstante, en este mismo sentido también se ha descrito el aumento en los niveles de expresión de los receptores NMDA y AMPA, que en el caso de los primeros se incrementan las subunidades tipo NR2A y NR2B, tanto en células del GD como en neuronas de CA1 (Pastor, Uzcátegui, Galleguas, Ortega, Sola & Menéndez, 2006; Rogawski, 2013).

Varios estudios reportan un incremento en la liberación de glutamato desde los astrocitos, fenómeno que ocurre en la iniciación de la actividad epileptiforme. En el ambiente neuronal reorganizado la liberación de glutamato se debe a una subsecuente inyección intra-astrocítica de  $Ca^{2+}$  por los canales IP3, lo que desencadena corrientes eléctricas en las neuronas piramidales de CA1 y terminan convirtiéndose en descargas recurrentes (Albrecht & Zielinska, 2016). Estas alteraciones se traducen en patrones de actividad eléctrica que pueden ser estudiados.

Las características electrofisiológicas que ocurren a nivel de potenciales de campo y a nivel celular pueden ser registrados mediante arreglos de microelectrodos, mediante esta técnica se pueden identificar características electrográficas de una CE en dos niveles, específicamente la ocurrencia de HFO y cambios celulares específicos en el patrón de disparo neural. Las HFO son breves (10-200 ms) y consisten principalmente en oscilaciones (80-200 Hz) u oscilaciones rápidas (200-600 Hz), pico máximo que refleja el incremento en la frecuencia de disparo glutamatérgico y pueden concurrir con descargas interictales epileptiformes (DIE). Estas alteraciones están fuertemente expresadas en regiones hipocampales y parahipocampales. La hipótesis de

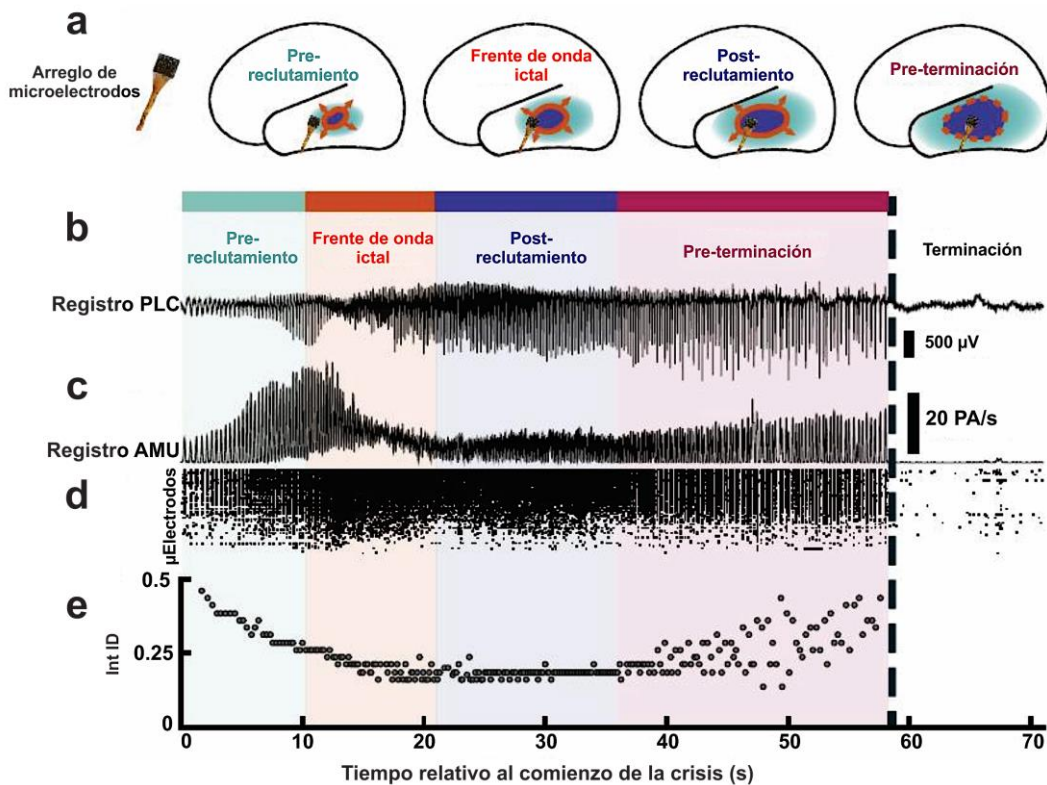
que las neuronas se encuentran interconectadas patológicamente postula que las HFO reflejan los potenciales de acción sumados de un grupo neuronal que está estructural y funcionalmente conectado y los cambios registrados presentan un aumento en amplitud y sincronización de las descargas, siendo excelentes marcadores de la iniciación de las CE.

La aparición de un complejo de oscilaciones rápidas durante la ocurrencia de hipersincronización en la fase temprana de reclutamiento neuronal corresponde a un incremento transitorio de la actividad inhibitoria seguido de un rebote en el disparo de las células piramidales glutamatérgicas. En esos períodos iniciales es común observar la aparición de caídas rápidas de voltaje que se asocian al disparo interneuronal, pero que rápidamente cambian a períodos de sincronización. Este cambio es generalmente desencadenado por el disparo de un conjunto muy pequeño de neuronas que mediante potenciales despolarizantes originan disparos rítmicos. Estos conjuntos electrográficos también se pueden observar hasta 20 segundos antes del comienzo de las CE, aunque con menor amplitud y se relacionan con acoplamiento de fase en neuronas piramidales y células granuladas de CA1, GD y CxEn (Weiss et al., 2016).

Durante la fase de mantenimiento y terminación se presentan alteraciones electrofisiológicas, asociadas al establecimiento de las HFO. Se caracteriza por un componente de oscilaciones de gran frecuencia que disminuyen gradualmente, involucrando la aparición de DIE. Esta actividad depende de patrones de disparo heterogéneo, sincronizándose a gran escala. Las distintas fases de progresión en el reclutamiento neural se pueden observar electrográficamente con cambios dramáticos en la morfología y frecuencia, como se observa en la figura 3. De forma general estas oscilaciones tienen su origen en las corrientes entrantes de sodio ( $\text{Na}^+$ ) y  $\text{Ca}^{2+}$  y corrientes de salida para uno o más tipos de  $\text{K}^+$ . El influjo de  $\text{Ca}^{2+}$  modifica la conductancia dependiente de  $\text{K}^+$  que regula los períodos de hiperpolarización lenta y sus altas concentraciones extracelulares facilitan la despolarización, tales eventos electrográficamente se asocian a las frecuencias de 10-15 Hz en el EEG, siendo más atípicas.

La eficacia de la señalización inhibitoria se ve reducida por cambios diferenciales en potenciales inhibitorios dendríticos y somáticos, déficits en la liberación de GABA y perturbaciones en la homeostasis de la concentración de Cloro ( $\text{Cl}^-$ ) en células piramidales con niveles bajos de cotransportador de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$  (KCC)2 y altos niveles del cotransportador de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  (NKCC)1, responsables de la homeostasis de este ion. La reducción de las señales inhibitorias generaría los cambios de las corrientes de  $\text{K}^+$  hiperpolarizantes facilitando el incremento de excitabilidad y generando los disparos en forma de ráfagas.

La pérdida interneuronal y la desinhibición de grandes poblaciones de células piramidales debido a la reorganización celular provocan un reclutamiento progresivo de otras áreas cerebrales, llegando a un punto donde la inhibición GABAérgica termina por debilitarse y las dinámicas de disparo excitadoras se sincronizan (Alvarado-Rojas et al., 2015; Jefferys et al., 2012).



**Figura 3. Progresión electrográfica de la actividad epileptiforme.**

Registros realizados a través de un arreglo de microelectrodos en el lóbulo temporal. Los colores indican las diferentes épocas de una crisis: la línea azul corresponde al período que presenta el pre-reclutamiento de grupos neuronales en la crisis, la línea naranja corresponde al comienzo de la crisis (frente de onda ictal), la línea violeta abarca la actividad post-reclutamiento (fase de mantenimiento de la crisis), y la línea rosa corresponde a los últimos segundos antes de terminarse la crisis. En **a**) representación de las fases de propagación en forma espacial que son registradas por los microelectrodos. En **b**) trazo representativo del potencial de campo durante la crisis con un microelectrodo. En **c**) promedio de disparos neurales durante la crisis de un registro multiunitario. En **d**) trama de frecuencias (*raster*) multiunitaria de los canales del MAE durante la crisis. En **e**) gráfica de intervalos inter-descargas a través de la duración de la crisis. Nótese los cambios progresivos en la morfología del registro intracraneal y en la frecuencia de los disparos neuronales. Los períodos iniciales de la crisis se ven caracterizados por amplitud y frecuencia irregulares, lo que se relaciona con los mecanismos interneuronales de inhibición que intentan contener la actividad (aparición de caídas de voltaje). No obstante, durante la fase ictal y el periodo de post-reclutamiento presentan incrementos dramáticos en la amplitud y frecuencia que se mantienen estables hasta la aparición de DIE, finalizando con descargas irregulares y lentas hasta desaparecer abruptamente. Traducido de Smith et al., 2016.

### 1.3.1.1.2.2. Alteraciones asociadas a la neurotransmisión GABAérgica

La evolución progresiva de las crisis recurrentes en la ELT esta vinculada a los fenómenos de hiperexcitabilidad y sincronización. Estas alteraciones no sólo encuentran su génesis en la reorganización de los circuitos excitatorios, un gran número de investigaciones a nivel clínico y experimental dan cuenta de que los sistemas de neurotransmisión inhibitoria GABAérgica se encuentran dañados.

Las interneuronas proveen de un control inhibitorio de los ensambles neuronales locales y tienen un papel fundamental en los procesos icogénicos epilépticos. Entre estas células se encuentran las interneuronas en canasta o axo-axónicas que forman múltiples contactos sinápticos con la región perisomática de las células principales glutamatérgicas, contribuyendo a la generación de potenciales post-sinápticos inhibitorios (PPI) mediados por el receptor GABA<sub>A</sub>. También se encuentran interneuronas que conforman una variedad de subtipos que hacen contactos selectivos con diferentes dominios dendríticos y que se asocian a la generación de potenciales lentos mediados por GABA<sub>A</sub>. Durante la epileptogénesis se ha observado una reducción significativa en la eficacia inhibitoria de este tipo de neuronas debido a cambios en los receptores GABAérgicos, a la muerte celular que se genera por la excitotoxicidad glutamatérgica y a la reinervación de los contactos sinápticos con nuevos blancos principales (Blauwblomme, Jiruska & Huberfeld, 2014).

Los pacientes afectados por la ELT presentan patrones variables de pérdida neuronal, siendo el hilus del GD la estructura más sensible, donde la población de interneuronas se ve reducida significativamente. La pérdida neuronal disminuye la inhibición del GD, facilitando el inicio de una crisis al tener un menor umbral de activación.

Las interneuronas también pueden diferenciarse en distintas subclases basadas en la expresión de proteínas específicas. Aquellas que son positivas a parvalbumina se encuentran en CA1, subiculum y la capa de células granuladas, observando una gran reducción de su población en la neocorteza y el hipocampo con diferentes patrones. La región CA1 tiene una pérdida moderada en forma inicial, con una dramática pérdida cuando evoluciona a EschH, observándose sólo unas cuantas dendritas y terminales axónicas en la región. Interneuronas positivas a somatostatina se ven disminuidas en GD y CA1, para interneuronas positivas a neuropéptido-Y en cortezas perirhinal e insular, mientras que las positivas a colecistoquinina se ven reducidas en las capas superficiales de la CxPer. Respecto a las interneuronas positivas a calretinina se ven disminuidas significativamente en la capa molecular y las positivas al ácido glutámico en el subiculum y el stratum oriens de CA1. La pérdida neuronal de este tipo supone también la pérdida de inhibición perisomática que ejerce la inervación en canasta y en candelabro, específicamente la inhibición del segmento inicial del axón de las células piramidales en forma axo-axónica. Estas marcadas reducciones en las poblaciones celulares inhibitorias están fuertemente asociadas con el desarrollo de crisis espontáneas (Curia et al 2014; Scharfman & Buckmaster, 2014).

Por otro lado, una serie de mecanismos alteran también los receptores GABAérgicos en células piramidales, generando una marcada reducción en la

eficacia de este tipo de neurotransmisión. Se ha observado una sobrerregulación de la subunidad 2 del receptor GABA<sub>A</sub> en el soma y en las dendritas apicales y una disminución en las basales. La reinervación de los axones en las células en candelabro van formando conexiones hipertróficas, dejando a estos nuevos crecimientos con una recuperación más lenta ante trenes de alta frecuencia. Estos cambios pueden generar eventos sincrónicos espontáneos parecidos a las DIE, donde los efectos despolarizantes se deben al aumento en los niveles de Cl<sup>-</sup> por las alteraciones en los cotransportadores NKCC1 y KCC2 que revierten la dirección de la corriente inducida por la apertura de los receptores GABA<sub>A</sub>, colapsándose los gradientes electroquímicos. Al cambiar las propiedades de KCC2 también se ven incrementadas las concentraciones de K<sup>+</sup> al cambiar la dirección del transporte ya que durante la transición de la crisis también se presenta de un influjo de Cl<sup>-</sup> a un eflujo, manteniendo el K<sup>+</sup> afuera, en un ciclo que se repite al revertirse la dirección del flujo (Blauwblomme, Jiruska & Huberfeld, 2014; Pastor et al., 2006; Scharfman & Buckmaster, 2014).

Después del daño neuronal por las crisis también se presenta un decline significativo en el número de receptores GABA<sub>A</sub> que contienen las subunidades β y γ debido a una disminución en la fosforilación de β3 y γ2, siendo removidos rápidamente de la membrana celular. La pérdida de estas subunidades también se ve relacionada con una regulación a la baja de proteínas de anclaje celular, específicamente la gefirina que tiene enlaces más débiles con los receptores GABA<sub>A</sub>, alterando su expresión. Los cambios derivados en los receptores GABAérgicos es regulado por el incremento en la síntesis de BDNF y la activación de sus receptores (Trk-B y p75) así como el control de cascadas de señalización intracelular que incluyen las proteínas JAK-STAT, PKC y MAPK. El BDNF es conocido por incrementar la fosforilación del Elemento de Respuesta a Unión de Proteína cAMP (CREB), siendo también un potente regulador de la síntesis del Represor Temprano de cAMP Inducible (ICER). Ambas proteínas incrementan su unión al gen promotor del receptor GABA<sub>A</sub> o GABRA1-p en la región del GD, silenciándolo. Asimismo, se ha reportado una disminución del transportador KCC2 que altera las concentraciones de K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> debido al incremento de BDNF, aumentando considerablemente sus niveles extracelulares (González, 2013; Fritschy, 2008; Kaila, Ruusuvuori, Seja, Voipio & Puskarjov, 2014; Scharfman & Brooks-Kayal, 2014).

Debido a los cambios plásticos como consecuencia de la epileptogénesis, eventualmente surgen alteraciones electrofisiológicas que facilitan la aparición de crisis espontáneas. Los experimentos *in vitro* en tejido de pacientes con ELTM mediante manipulación farmacológica han demostrado que la neurotransmisión GABAérgica es crucial en la iniciación de la excitabilidad celular. El análisis de la actividad epileptiforme en tejido humano durante la aplicación de antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub> indica que las descargas

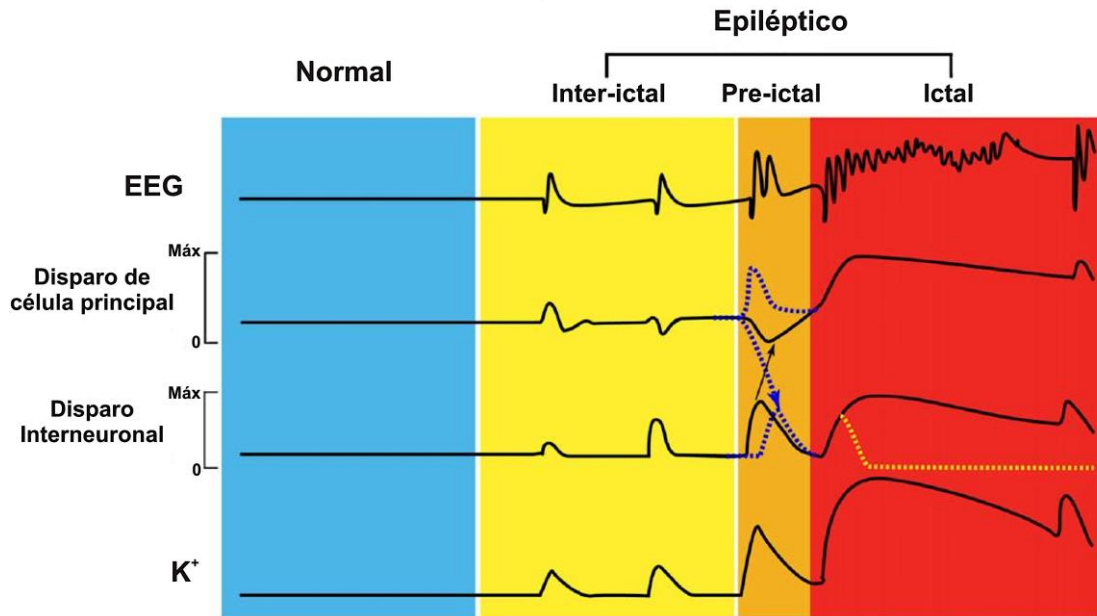


sincrónicas inducidas por estímulos contribuyen al incremento de conductancia en los receptores ionotrópicos glutamatérgicos. Específicamente la propensión del área CA3 a generar DIE está vinculado a la capacidad de las células piramidales para generar disparos sensibles a cambios de voltaje por la acción de  $\text{Ca}^{2+}$ , mismo proceso que se suscita en registros intracelulares hipocampales al utilizar antagonistas como la 4-aminopiridina (antagonista de los canales de  $\text{K}^+$ ), exhibiendo complejos despolarizantes paroxismales. Los registros de potenciales de campo obtenidos de áreas parahipocampales ha revelado que las DIE se dan de manera heterogénea en términos de su rango de ocurrencia y de su forma, Los registros mediante microelectrodos obtenidos de la corteza CxEn y AM han demostrado que durante la aplicación de 4-aminopiridina se generan eventos inter-ictales lentos caracterizados por despolarizaciones duraderas, siendo observadas también en interneuronas del hilus del GD, originándose por las corrientes de  $\text{Cl}^-$  debido a la actividad del receptor  $\text{GABA}_A$ . Los registros obtenidos en rebanadas de tejido subicular en pacientes con ELT han mostrado que distintas descargas pre-ictales emergentes que concurren con eventos interictales que dependen de los mecanismos glutamatérgicos y que preceden al disparo de células piramidales. Así, la activación de redes inhibitorias podría intervenir en los últimos segundos de las descargas generadas por las células principales, sin embargo, esto falla cuando los disparos progresan en un patrón de descargas recurrentes, fenómeno que se observa al iniciar una crisis electrográfica (Avoli, Louvel, Pumain & Köhling, 2005; Avoli & Curtis, 2011).

La actividad sincrónica y la propagación durante las crisis se adscriben principalmente a la actividad que se origina entre la neocorteza temporal, la CxPer y CxEn, y es restringida por redes inhibitorias de tipo *feed-forward*. Una propagación masiva de actividad sincronizada entre estas regiones puede ser generada desde la región entorrinal-hipocampal con un componente GABAérgico específico relacionado. El bloqueo de los receptores  $\text{GABA}_A$  de esta región facilita la propagación recíproca de la actividad entre las diferentes cortezas sugiriendo una red local de inhibición *feed-forward* que es crucial en el control y regulación de las descargas epileptiformes.

Estos resultados se traducen en que la actividad de disparo de células glutamatérgicas principales y redes interneuronales a través de los cambios en las concentraciones de  $\text{K}^+$  se manifiesta bajo diferentes condiciones, desde la presencia de actividad eléctrica normal hasta el comienzo de un evento ictal. Los disparos neuronales en ambos tipos de células se incrementan durante las espigas interictales a pesar de que el disparo de una neurona principal pueda ser inhibido. Dos posibles secuencias de eventos son activas durante el estado preictal, donde el primero refiere al incremento de sincronización en el periodo que precede la crisis y que se reduce justo al comienzo de la misma, no obstante, en el segundo evento, los disparos sincronizados interneuronales

permiten que la liberación de GABA promueva un gran incremento de  $K^+$ , restaurando los períodos de disparo en todas las células y provocando una transición a períodos de masiva actividad sincronizada. Este fenómeno se amplifica si durante la fase pre-ictal, poblaciones glutamatérgicas de neuronas fueron reclutadas debido a los incrementos de  $K^+$ , haciendo más fácil su despolarización y promoviendo la transición hacia una CE (Avoli & Curtis, 2011). Este proceso se ilustra en la figura 4.



**Figura 4. Interacción entre células principales, interneuronas y actividad de  $K^+$  durante diferentes estados del EEG.**

Los esquemas resumen el papel de los receptores  $GABA_A$  subsecuente a la liberación de GABA por interneuronas durante condiciones normales y epilépticas. Se muestra el EEG hipotético y se muestran el total de disparos generados por una célula principal y por las redes interneuronales, así como las corrientes de  $K^+$ . En la condición epiléptica son consideradas las descargas inter-ictal, pre-ictal e ictal. Nótese el incremento de la actividad interneuronal (y consecuente liberación de GABA) que ocurre en los tres estados, mientras un decremento de las células principales (activación secundaria de los receptores  $GABA_A$ ) puede resultar durante las descargas inter-ictales, así como la duración de las espigas pre-ictales. El mecanismo pre-ictal en el cual las espigas conducen a una descarga ictal son principalmente glutamatérgicos y capaces de activar interneuronas de forma secundaria, siendo representado por las líneas punteadas azules. Note que la línea punteada amarilla indica el posible decremento en el bloqueo de la despolarización secundaria durante el disparo interneuronal. Modificado de Avoli & Curtis, 2011.

### 1.3.1.1.3. Lesión esclerótica hipocampal

La EscH es la anomalía histopatológica más común en pacientes que padecen ELT y que presentan resistencia a los fármacos además de que está particularmente asociada con la presencia de ELTM. La incidencia de esta lesión en situaciones de tratamiento quirúrgico varía de un 33.6% a 66%. En tejido *post-mortem* la EscH está presente en un 30.5%, 45% en todos los tipos de síndromes epilépticos y hasta en un 56% con el síndrome de ELTM. La causa directa de la EscH está vinculada a las alteraciones moleculares, celulares y electrofisiológicas que refieren a un hipocampo epileptogénico. Existen varios esquemas para clasificar los subtipos de esclerosis que se

basan en la distribución y la extensión de la lesión en las distintas capas y regiones extrahipocampales. La ILAE clasifica esta condición a través de patrones en la pérdida neuronal y gliosis, siendo determinadas como medidas objetivas de la esclerosis que no incorpora otras alteraciones (cómo *sprouting* de las fibras musgosas o alteraciones interneuronales). La aparición de crisis recurrentes espontáneas se da como consecuencia de descargas persistentes, lo que provoca daños a nivel celular. La liberación excesiva de glutamato desencadena la despolarización a través de la activación de receptores AMPA y NMDA, siendo éste último el que ocasiona la entrada de  $Ca^{2+}$  a la célula. Los niveles elevados de este ion se regulan por la acción de las mitocondrias, sin embargo, la hiperactividad de estos organelos genera la activación de cascadas de señalización intracelular, entre las cuales están el aumento de la óxido nítrico sintasa que interfiere con el metabolismo oxidativo y genera radicales libres, ocasionando un daño en la membrana neuronal, la activación de proteasas, fosfolipasas y la inhibición de síntesis de proteínas. Aunado a esto también se activan enzimas promotoras de apoptosis como las procaspasas, provocando la muerte neuronal. (Blümcke et al., 2013; Lorigados, Orozco, Morales, Estupiñán, García & Rocha, 2013; Thom, 2014; Waldbaum & Patel, 2010).

El patrón de extensión de la lesión esclerótica debido a muerte celular se puede clasificar básicamente en 3 tipos:

EsCH tipo 1: es el tipo más común de EsCH (aproximadamente un 60-80% de todos los casos con ELT-EsCH) donde al área de CA1 está severamente afectada. Otros segmentos también presentan pérdida neuronal significativa afectando del 30-50% de las células piramidales de CA2, 30-90% de CA3 y 40-90% de CA4. El GD es usualmente afectado con un 50-60% de pérdida en células granuladas.

EsCH tipo 2 (pérdida neuronal y gliosis con predominancia en CA1): se presenta pérdida neuronal predominante en CA1 afectando al 80% de las células piramidales. En otros sectores la pérdida de células principales es en CA2 < 20%, en CA3 < 30% y en CA4 < 25%, aunque este patrón no suele ser común, siendo visible sólo del 5-10% de todos los casos quirúrgicos en ELTM. La patología en el GD incluye un proceso de dispersión en las células granuladas, así como una disminución en su población.

EsCH tipo 3 (pérdida neuronal y gliosis con predominancia en CA4): se muestra una pérdida neuronal selectiva del 50% con predominancia en el área CA4 y en el GD con 35%. Mientras que se ven moderadamente afectadas la región CA3 (<30%), CA2 (<25%) y CA1 (<20%)

Alrededor del 20% de los casos de ELT pueden no presentar una pérdida neuronal significativa, teniendo sólo procesos de gliosis reactiva. A este grupo se le designa como “sin esclerosis hipocampal y con presencia de gliosis”. No obstante, algunos hallazgos histopatológicos han encontrado hasta un 10% de tejido esclerótico en las densidades neuronales y varios grados de gliosis. Otro de los hallazgos es la presencia de dispersión de células granuladas que ocurre hasta en un 50% de los casos de ELT. La dispersión de estas células varía entre cada tipo de lesión esclerótica y también puede ocurrir en su ausencia. Evidencia reciente sugiere que este fenómeno se asocia a la deficiencia de reelina en el GD que interfiere con la migración neuronal, facilitando posiciones ectópicas anormales de las células. También se relaciona con grandes pérdidas celulares del hilus, exhibiendo patrones bilaminares de aglomeraciones granuladas en el mapa molecular (Blümcke et al., 2013; Malmgren & Thom, 2012; Thom, 2014).

Otra de las alteraciones como consecuencia de la EsCH son las anomalías vasculares caracterizadas por la proliferación de microvesículas, aumento en la expresión del receptor a VEGF y pérdida de la integridad en la barrera hematoencefálica. La fuga vascular de proteínas, que incluyen la inmunoglobulina y la albumina podrían contribuir a la disfunción neuronal en la epilepsia. La sobreexpresión de proteínas transportadoras de fármacos en la barrera hematoencefálica en condiciones escleróticas, como la P-glicoproteína y otras que se asocian a la resistencia múltiple de fármacos, han sido relacionadas a la falla de tratamientos debido al eflujo facilitado de fármacos evitando la llegada de FAE a sus neuronas blanco (Thom, 2014).

#### **1.3.1.1.4. Desarrollo de resistencia farmacológica**

El desarrollo de resistencia en pacientes epilépticos incrementa el riesgo de muerte prematura, alteraciones psicosociales, psiquiátricas y médicas, reduciendo significativamente la calidad de vida. En los procesos epilépticos, tres grupos de pronósticos son generalmente considerados: 1) remisión espontánea de la enfermedad (20-30%), 2) remisión con FAE (20-30%) y 3) presencia de crisis persistentes bajo la acción de FAE (30-40%) que incluye a la epilepsia refractaria. Para definirla en un marco clínico, la farmacorresistencia se determina a través de tres componentes de intratabilidad: el número de FAE previamente empleados, la frecuencia con la que se presentan las crisis y la duración de la condición epiléptica no controlada. Diversas investigaciones incluyen criterios de farmacorresistencia que comprenden: 1) ausencia de respuesta a dos FAE tolerados en dosis razonables, 2) una frecuencia mínima de crisis para ser considerada refractaria o la duración mínima de remisión y 3) al menos un año de epilepsia no controlada. Igualmente se ha desarrollado una escala flexible para uso clínico y

clasificar a la epilepsia como potencial (presencia de crisis empleando FAE en menos de un año con factores predictivos para suponer farmacorresistencia), probable (presencia de crisis por más de un año empleando al menos dos FAE) y definiéndose como farmacorresistente (epilepsia catastrófica con presencia de crisis por más de un año, después de 5 años de tratamiento con al menos tres FAE). De esta forma la ILAE define a la epilepsia farmacorresistente como aquella en la cual se ha producido el fracaso a dos ensayos de FAE, en monoterapia o en combinación, tolerados, apropiadamente elegidos y empleados para conseguir la ausencia mantenida de las CE. Por ello que la identificación de pacientes con epilepsia farmacorresistente es fundamental para facilitar el inicio de una evaluación pre-quirúrgica o establecer posibles alternativas terapéuticas en unidades o centros especializados (Beleza, 2009; López et al., 2015). La ELTM es uno de los síndromes epilépticos donde más casos de farmacorresistencia existen y donde se llevan a cabo más procesos quirúrgicos y de neuromodulación para un control efectivo de las CE.

Los mecanismos que desencadenan la resistencia farmacológica son variables y multifactoriales. La mayoría de las hipótesis sobre los mecanismos celulares se basa en la “hipótesis del transportador”, la cual propone que la resistencia a fármacos se atribuye a la sobreexpresión de transportadores de eflujo farmacológico en el foco epileptogénico. A estos transportadores se les llama cassette de unión al adenosín trifosfato (ATP), proteínas de membrana que expulsan substratos de la célula contra el gradiente de concentración. El transportador de eflujo más estudiado es la P-glicoproteína, la cual es expresada en los capilares de las células endoteliales en el cerebro, donde se bombean diversos xenobióticos del espacio intracelular de regreso al lumen capilar manteniendo la integridad de la barrera hemato-encefálica y reduciendo así la acumulación de substratos farmacológicos. Sin embargo, en condiciones de farmacorresistencia existe un incremento en la regulación de la P-glicoproteína y otros transportadores de eflujo en los capilares, así como su expresión aberrante en células gliales y neuronales.

Otra de los mecanismos supuestos es la “hipótesis del blanco”, la cual postula una alteración en los blancos celulares de los FAE, dejando una reducción en la sensibilidad al tratamiento. Los polimorfismos del gen SCN2A que codifica la subunidad  $\alpha_2$  de los canales de  $\text{Na}^+$  está asociado con la resistencia de FAE que actúan sobre tales blancos. También se ha observado la expresión alterada de subtipos de receptores GABAérgicos (particularmente  $\text{GABA}_A$ ) en pacientes con ELT farmacorresistente, disminuyendo considerablemente la sensibilidad al tratamiento.

Los FAE actuales están diseñados solamente para intervenir preventivamente en las CE, por lo que es muy probable que no estén direccionados al blanco apropiado. La presencia de autoanticuerpos para canales iónicos están

involucrados en los procesos de excitación e inhibición neuronal, incluyendo los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  (como lo canales tipo T),  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  sensibles a voltaje. Alteraciones de los receptores glutamatérgicos NMDA y receptores  $\text{GABA}_B$  han sido identificados en pacientes que presentan crisis de causa desconocida y que frecuentemente no responden a los FAE convencionales. Otros mecanismos celulares propuestos incluyen el estrés oxidativo mitocondrial y la disfunción de los acoplos eléctricos a través de las *gap junctions* en neuronas e incluso en células gliales (Beleza, 2009; Kwan, Schachter & Brodie, 2011; Remy & Beck, 2006; Robey, Lazarowski & Bates, 2008).

Con el fin de comprender el complejo de mecanismos que subyacen a la epileptogénesis y la generación de las crisis en la ELT además de otras formas de epilepsia que no pueden ser completamente estudiadas en humanos, el uso apropiado de modelos experimentales se vuelve necesario (Kandratavicius, Alves, Lopes-Aguiar, Naime, Henrique, García-Cairasco, Bueno-Junior & Pereira, 2014). En el siguiente capítulo se describirán algunos de los modelos frecuentemente utilizados en la investigación, en específico el *kindling*, un modelo de crisis convulsiva y epileptogénesis.

---

# CAPÍTULO 2

## REPRODUCIENDO LA PATOLOGÍA: MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA

A través de las décadas han surgido progresos considerables en la farmacoterapia de la epilepsia, esto incluye la introducción de nuevos fármacos antiepilépticos y el perfeccionamiento de otros más viejos. No obstante, a pesar de este progreso una tercera parte de los pacientes con epilepsia son resistentes a las farmacoterapias, por lo que resulta de vital importancia comprender los mecanismos básicos que permiten el establecimiento y evolución de esta enfermedad (Löscher, 2002).

La prevalencia en la ELT, así como la ausencia de un tratamiento antiepiléptico hace necesario realizar nuevos estudios y crear modelos experimentales en animales que permitan comprender los mecanismos básicos fisiopatológicos e identificar tratamientos eficaces basados en el uso preclínico de estos modelos para así establecer la eficacia y seguridad *a priori* de la primera prueba en humanos (Garcia, Garcia, Guiu, 2010; Löscher, 2011).

Este hecho contribuye principalmente a la creación de propuestas encaminadas a identificar nuevos fármacos que funcionan para un tipo de actividad anticonvulsiva específica, en diferentes tipos de crisis o síndromes epilépticos. Asimismo, estos fármacos se emplean para validar modelos específicos de crisis resistentes a los antiepilépticos.

La investigación en los modelos experimentales de esta enfermedad ha permitido descubrir las rutas fisiopatológicas más comunes y con ello hipotetizar que existe un desbalance entre la neurotransmisión inhibitoria GABAérgica y glutamatérgica. La activación de receptores glutamatérgicos NMDA, AMPA y receptores de kainato, así como receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> se ven involucrados.

Los canales iónicos, en particular Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> también están relacionados en la epilepsia y por ello se han manipulado en varios modelos experimentales para imitar la actividad epiléptica. De esa forma se pueden explicar los mecanismos neuroquímicos, neurofisiológicos, celulares y moleculares de las CE. El investigador puede controlar varias de estas variables, obteniendo un acercamiento a los mecanismos que generan y mantienen las crisis, además del daño ocasionado por éstas (Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011). Los criterios necesarios para considerar que un modelo animal es adecuado son:

1. La actividad conductual manifestada debe ser similar en su fenomenología a las crisis presentadas en la epilepsia humana.
2. Las crisis deben estar asociadas a actividad paroxismal en el EEG con el fin de permitir la evaluación de los efectos farmacológicos en las manifestaciones conductuales y electrográficas.
3. Los fármacos antiepilépticos estándar deben ser inactivos o débilmente activos para bloquear las crisis.



4. El modelo debe permitir estudios a largo plazo con el fin de evaluar la eficacia farmacológica anticonvulsiva (Löscher, 1997).

Existen al menos tres categorías aceptadas para clasificar a los modelos experimentales considerando la duración del protocolo (agudos y crónicos), la causa de la actividad epiléptica (por sustancias químicas, estímulos físicos, alteraciones metabólicas o mutaciones genéticas), o bien, el tipo de actividad epiléptica que genera (focales o generalizadas, corticales o límbicas, clónicas o tónicas, etc.) En la tabla 3 se muestran algunos de los modelos experimentales utilizados para la investigación en epilepsia.

La mayor parte de los modelos experimentales que se han enfocado en la generación de las características fisiopatológicas de la ELTM se basan en la administración de algún agente químico pro-convulsivo (Velíšek, 2006).

Por ejemplo, el ácido kaínico (AK) tiene un potente efecto excitatorio en neuronas corticales de roedores. Ha sido aplicado directamente en varias estructuras como la AM, el hipocampo, el estriado y la sustancia *nigra*. En todos los casos se desencadenan crisis progresivas, mimetizando la epilepsia de lóbulo temporal, produciendo crisis agudas o crónicas con inyecciones de 4 mg/kg a 15mg/kg. El hipocampo resulta vulnerable debido a que la mayoría de los receptores del AK se encuentran en la región CA3, generando así al término del *Status Epilepticus* (SE), muerte neuronal y reacciones inflamatorias. La actividad EEG se caracteriza por la presencia de crisis focales. Este modelo se utiliza para el estudio de la reorganización de las fibras musgosas, las cuales juegan un importante papel en los mecanismos de la neurogénesis y por tanto, de la epileptogénesis al alterar el mRNA (ácido ribonucleico mensajero) de los receptores GABA<sub>B</sub> en células granuladas.

También es utilizado el hidrocloreuro de pilocarpina que es un agonista muscarínico colinérgico, los receptores de acetilcolina (Ach) expresados en el hipocampo producen crisis debido a un incremento en su activación. En dosis de 320 mg/kg a 380 mg/kg inyectado vía intraperitoneal por 30 min causa un evidente daño en el sistema límbico. En dosis altas de hasta 380 mg/kg induce estado epiléptico cuando son administradas sistémicamente. Los animales presentan cambios conductuales tales como mirada fija, oscilación de la cabeza, movimientos alterados de la boca y salivación que duran hasta 45 minutos, después cada 5 o 15 minutos se presentan crisis motoras aisladas

**Tabla 3. Modelos experimentales de epilepsia en animales**

Tipo de agente	Agente causante	Tipo de actividad convulsiva que genera	Tipo de protocolo	Edad de las ratas
Químico	Ácido kaínico	Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas, estado epiléptico	Agudo, crónico	Adultas y en desarrollo.
	Pilocarpina	Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas, estado epiléptico	Agudo, crónico	Adultas y en desarrollo
	Pentilentetrazol	Crisis clónico-tónicas generalizadas	Agudo	Adultas y en desarrollo
		Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas	Crónico ( <i>Kindling</i> químico)	Adultas
		Crisis de ausencia	Agudo	Adultas
	Glutamato monosódico	Crisis tónico-clónicas generalizadas	Agudo, crónico	En desarrollo
	Fluoroetil	Crisis clónico-tónicas generalizadas	Agudo	En desarrollo
Toxina tetánica	Crisis secundariamente generalizadas	Crónico	Adultas y en desarrollo	
Físico	<i>Kindling</i> eléctrico	Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas	Crónico	Adultas y en desarrollo
	Generación de postdescargas corticales	Crisis parciales complejas o crisis mioclónicas	Agudo	En desarrollo
	Electrochoques	Crisis mioclónicas Crisis tónico-clónicas	Agudo	Adultas y en desarrollo
	Hipertermia	Crisis parciales complejas secundariamente generalizadas	Agudo Crónico	En desarrollo
	Hipoxia	Crisis tónico-clónicas	Agudo	En desarrollo
Genético	Ratas genéticamente propensas a crisis de ausencia GAERS (Genetic Abscense Epilepsy Rats from Strasbourg)	Crisis de ausencia Descargas electrográficas tipo espiga onda espontáneas	Crónico	Jóvenes (1 mes de edad y adultas)
	Ratas genéticamente propensas a crisis de ausencia WAG/Rij (Wistar Abscense Glaxo rat)			
	Ratas genéticamente propensas a la epilepsia GEPR (Genetically Epilepsy-Prone Rats)	Crisis de ausencia primarias o secundariamente generalizadas (clónicas/ tónico-clónicas)	Crónico	Adultas

Tomado de Zavala-Tecuapetla & López Meraz, 2011.

que progresan hasta el SE en 1 o 2 horas después de la inyección. Los cambios en el EEG se observan primero en el hipocampo, seguido de la AM y la corteza al igual que alteraciones en el cerebro anterior ventral. Una vez aplicada la inyección, transcurridos alrededor de 15 a 20 minutos los cambios en el EEG se caracterizan por la aparición de espigas de alto voltaje y actividad rápida en la banda teta. La inducción del estado epiléptico por pilocarpina produce un extenso daño cerebral semejante al observado en la administración de AK. Las estructuras que se ven mayormente alteradas por este proceso son el complejo amigdalino, el tálamo, la neocorteza, el hipocampo y la sustancia *nigra*. Este daño también es muy similar al ocurrido en humanos con ELT. El bulbo olfatorio anterior, la CxPir y CxEn presentan un daño extremo que consiste en la contracción de cuerpos celulares neuronales e inflamación edematosa de neuropilos. En el hipocampo se observa una modificación en la actividad de la bomba de sodio-potasio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa) así como alteraciones en la expresión de subunidades en NMDA.

El modelo de pentilentetrazol (PTZ) se utiliza para inducir actividad parecida a las crisis primarias tónico-clónicas generalizadas de la epilepsia en humanos. En dosis intraperitoneales que van desde los 20 mg/kg a 300 mg/kg los animales manifiestan crisis clónicas mínimas en los miembros anteriores y en vibrisas con períodos cortos de los 3 a 5 segundos de duración.

También hay presencia de proliferación celular en el hipocampo, que se caracteriza por un aumento de crecimiento axonal en la capa CA3, así como un incremento en la despolarización de membrana causada por incrementos de voltaje en canales de  $\text{K}^+$  sensibles a voltaje. De esta forma resulta un desbalance entre los sistemas de neurotransmisión inhibitorio y excitatorio como consecuencia de la pérdida de inhibición mediada por GABA. El PTZ se une a su sitio de unión en el receptor ionotrópico  $\text{GABA}_A$  bloqueándolo, evitando la entrada de  $\text{Cl}^-$  a la neurona y por ende una hiperpolarización.

Por otro lado, la aplicación tópica de algunos químicos en estructuras del lóbulo temporal también es de utilidad para generar focos epileptógenos. La toxina tetánica fue usada por primera vez para crear eventos crónicos epileptiformes al ser aplicada en la corteza de los perros. Se conoce que aproximadamente un mes después de la aplicación del compuesto en la corteza se puede observar en el EEG actividad del tipo espiga-onda en la banda que va de los 3 a los 20 Hz. Las crisis presentadas son dependientes de la dosis y se caracterizan por movimientos mioclónicos de los miembros anteriores. Hasta 100 crisis se pueden producir por día. Estudios sugieren que la toxina interfiere con la liberación presináptica de neurotransmisores inhibitorios, alterando los procesos de crecimiento axonal, donde la presencia de axones en la capa molecular externa del GD indica una reinervación de las dendritas en las

células granuladas, causando sinapsis inmaduras (Rubio, Rubio-Osornio, Retana-Márquez, López, Custodio & Paz, 2010).

También se ha observado la aparición de crisis espontáneas en modelos de epileptogénesis focal mediante la aplicación local de algunos metales (Loscher, 1997). Ejemplo de ello son el hidróxido de aluminio, antimonio, hierro, cobalto o  $Zn^{2+}$ . Igualmente es posible inducir actividad convulsiva cortical y subcortical utilizando penicilina o cefalosporinas que son frecuentemente aplicadas en el hipocampo.

No obstante, existen limitaciones en los modelos químicos de ELT, entre los más frecuentes se encuentra la producción de numerosas lesiones que suelen extenderse más allá del sitio de aplicación, dificultando la relación entre el daño neuronal provocado y la evolución de las crisis convulsivas (Louis, Williamson & Darcey, 1987; Villasana, 2014).

Así resulta necesario un modelo experimental que precise el desarrollo de la epileptogénesis tanto espacial (control del foco epileptógeno, en específicas estructuras del sistema límbico) como temporalmente (observación y análisis del carácter progresivo de las CE), tenga semejanzas con la actividad que se presenta en la ELTM, además de presentarse el fenómeno de resistencia a los fármacos como sucede en una gran parte de los pacientes.

Para ello, otro tipo de modelos agrupa protocolos que se basan en la utilización de estímulos físicos que modifican la fisiología celular al aplicar corriente eléctrica. El estímulo físico causará modificaciones en el microambiente cerebral, incrementando la actividad y sincronización neuronal culminando en la manifestación de una crisis convulsiva (Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011).

Los modelos de crisis inducidas por estimulación eléctrica tienen una ventaja en la reproducción de las características epileptogénicas en un cerebro intacto con baja mortalidad y alta replicabilidad además de que las alteraciones postictales pueden ser investigadas cuando el estímulo epileptógeno ya no está presente (Kandratavicius et al., 2014).

El *kindling* ha sido usado como modelo de ELTM y de epileptogénesis al inducir cambios graduales en la excitabilidad neuronal de algunas áreas del sistema nervioso central mediante estimulación eléctrica repetida de corta duración y baja intensidad resultando en convulsiones conductuales y actividad paroxística (Fernández-Guardiola, Valdés-Cruz, Magdaleno-Madrigal, Martínez & Fernández-Mas, 1999; Gorter, van Vliet & Lopes da Silva, 2015).

A continuación se describirán las características del KEA y su importancia para el estudio de la ELTM al mimetizar mecanismos presentados en la epileptogénesis, proceso que es inherente para el desarrollo y establecimiento de la epilepsia.

## **2.1. *Kindling* eléctrico amigdalino como un modelo de ELT y epileptogénesis**

El *kindling* ha sido usado como modelo de epilepsia de lóbulo temporal y de epileptogénesis (el proceso de desarrollo que conlleva a la epilepsia) por más de 30 años y los resultados obtenidos han sido frecuentemente interpretados en términos de sus implicaciones para la condición humana (Bertram, 2007). Goddard en 1967 describió que ratas estimuladas eléctricamente presentaban convulsiones conductuales desencadenadas por estimulación subcortical de baja intensidad mediante su aplicación de manera periódica.

Estos resultados están asociados con lo que previamente reportaron Delgado y Sevillano en 1958 al percatarse de que la estimulación eléctrica repetida en el hipocampo anterior de gatos provocó cambios conductuales y en el EEG parecidos a los acontecidos en la epilepsia humana que fueron incrementando en duración y severidad conforme avanzaban los días de estimulación hasta que se presentaban crisis convulsivas.

Los cambios progresivos que resultan de la estimulación eléctrica repetida fueron denominados bajo un término llamado “efecto *kindling*”, y a la metodología para provocarlo “*kindling*”. A partir del estímulo, en cada ocasión en que se aplica sucede un cambio en la función cerebral, generando una predisposición para tener crisis que incluso después de largas interrupciones en la estimulación sigue siendo perdurable.

Algunas estructuras cerebrales se han utilizado para generar focos convulsivos mediante el *kindling*. Éstas pueden ser no responsivas a la estimulación mientras que otras tienen variaciones en su sensibilidad. Regiones muy cercanas al sistema límbico como el sistema motor extrapiramidal son positivas a la estimulación. El globo pálido es muy responsivo, al contrario del putamen caudado que tiene poca sensibilidad. Estructuras positivas al *kindling* se extienden desde el bulbo olfatorio hasta la CxEn incluyendo la región septal y el hipocampo.

Existe gran variedad en el número de días de estimulación necesarios para la primera crisis convulsiva generalizada, siendo la AM la estructura más responsiva, con un promedio de 15 estímulos como se observa en la figura 5. Dentro de la amígdala, todos sus núcleos parecen ser iguales en su sensibilidad (Goddard, 1969).

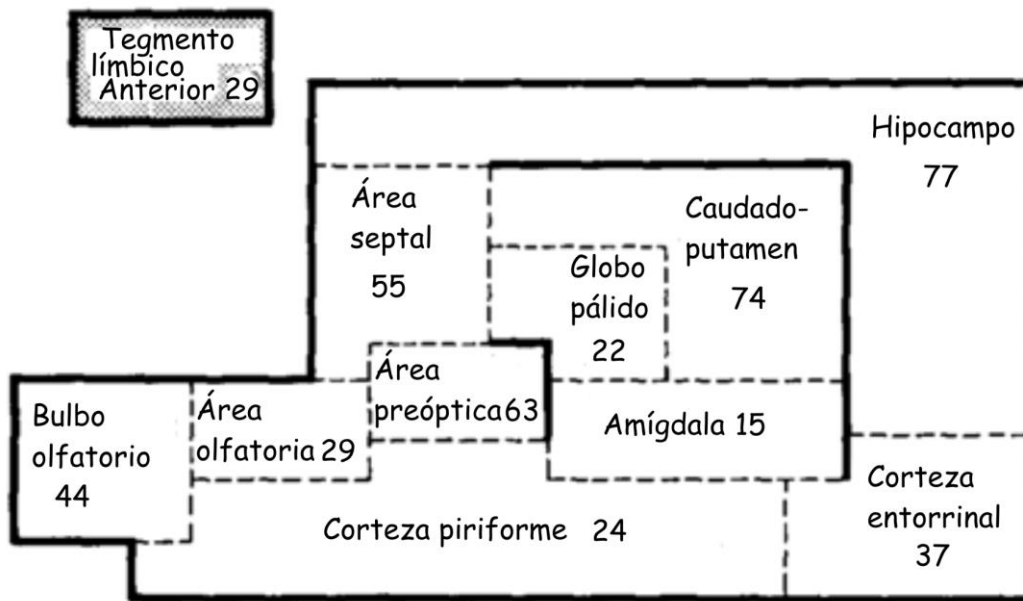


Figura 5. Diagrama de estructuras cerebrales que son responsivas al *kindling* eléctrico.

Promedio de estimulaciones para generar una crisis convulsiva en ratas. Tomado de Goddard, McIntyre, & Leech, 1969.

Es por ello y por la fenomenología conductual que se presenta en las crisis convulsivas, muy similar a las crisis parciales complejas secundariamente generalizadas que se observan en humanos, que el modelo de *kindling* eléctrico amigdalino (KEA) es utilizado para comprender los mecanismos que subyacen a la epileptogénesis, así como los efectos que tienen los anticonvulsivos en su progresión. Con ello la eficacia de estos tratamientos pueden ser evaluados, midiendo la disminución en el promedio de actividad convulsiva (Löscher, 1986). Con el fin de medir y cuantificar el efecto y desarrollo del KEA se deben analizar las siguientes variables:

- El número de estimulaciones eléctricas que son necesarias para provocar la primera CCGTC.
- La duración y frecuencia de la postdescarga (PD) en el EEG.
- El curso espacio-temporal de la propagación secundaria en la epileptogénesis contralateral a la AM de la corteza cerebral y de estructuras subcorticales.
- Los cambios progresivos conductuales que se manifiestan paralelamente a la actividad en el EEG.
- Los fenómenos EEG que se presentan en los períodos interictales.
- Una prueba post-*kindling* para verificar los cambios permanentes generados por la estimulación y que sensibilizan el umbral para presentar una crisis, una característica del *kindling* ya establecido (Fernández-Guardiola, Martínez, de Gortari & Fernández-Mas 1996).

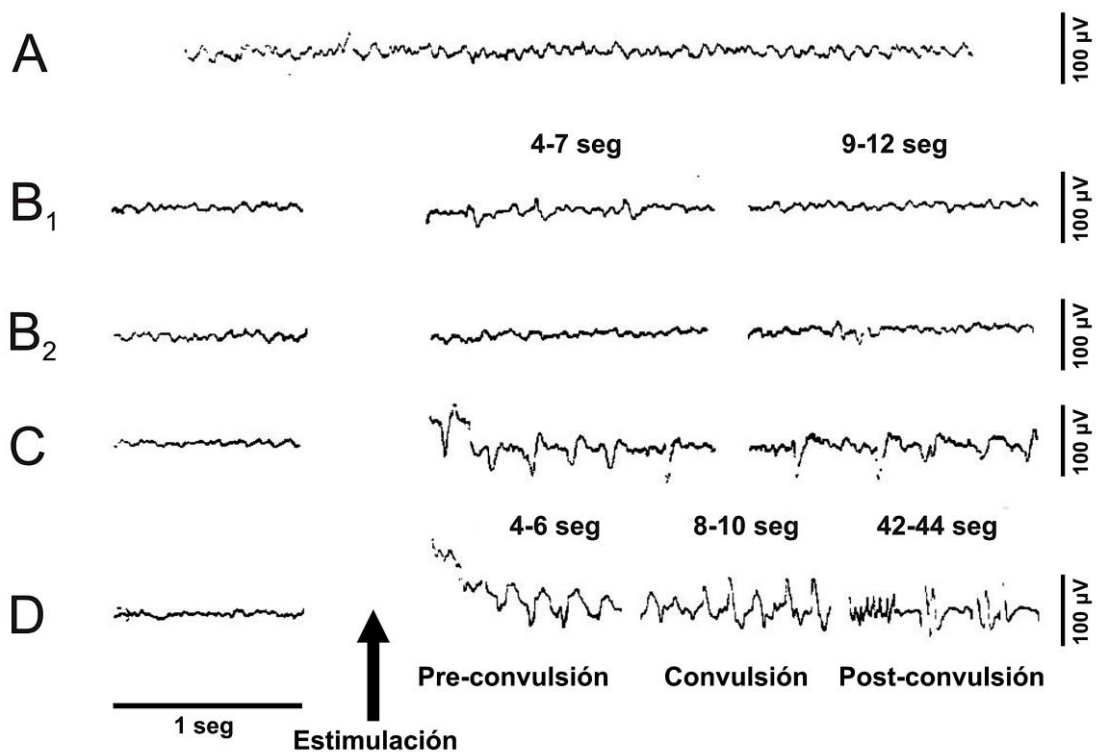
### 2.1.1. Características progresivas y filogenéticas en el KEA

El desarrollo de la epileptogénesis mediante el *kindling* ha sido ampliamente descrito. Así lo sustentan los variados experimentos que llevó a cabo Goddard y colaboradores en 1969 al utilizar ratas, gatos y monos *Rhesus*. Los mamíferos fueron implantados estereotáxicamente en el complejo amígdalino y una vez recuperados se estimularon diariamente con pulsos de corriente bifásicos con duración de 1 milisegundo a una frecuencia de 62.5 Hz, duración del tren de 1 segundo e intensidad creciente por estímulo de 75  $\mu$ A.

En las ratas no se observó ninguna respuesta en el primer estímulo, no obstante, una semana después, al séptimo estímulo se observaron cambios conductuales descritos por un detenimiento súbito de la conducta (*arrest*), un guiño ipsilateral y movimientos de masticación que continuaron varios segundos después de la estimulación. Estos automatismos fueron algunas veces precedidos o seguidos de sacudidas. Los cambios en la postdescarga consistieron en la aparición rítmica de espigas de gran amplitud que duraban varios segundos presentando variaciones en su frecuencia hasta disminuir paulatinamente de 5 a 1 espiga por segundo.

Así al término de la segunda semana se manifestaron las primeras convulsiones clónicas bilaterales, las cuáles comenzaron 15 segundos después de la estimulación, continuando con una duración cercana a los 7 segundos. El proceso convulsivo incluye posición sobre los miembros anteriores (*rearing*) y pérdida de postura culminando en la inmovilidad del mamífero. En el EEG se observa la aparición de espigas aisladas con breves episodios de actividad tipo ráfaga (*burst*) durante 1 o 2 minutos una vez terminada la crisis conductual (figura 6).

Las manifestaciones conductuales que se observan paralelamente a la estimulación en ratas y ratones fueron categorizadas por Racine en 1972 con una escala que comprende 5 estadios, Wada y Sato en 1974 crearon una clasificación muy similar en gatos que fueron estimulados, con la diferencia de que ésta tiene 6 estadios conductuales debido a que las crisis presentan más variaciones en su fenomenología, de esta manera se puede analizar la correlación entre la actividad epileptiforme de la PD y el desarrollo de las crisis motoras.



**Figura 6. EEG representativo de la actividad en la amígdala de rata.**

Nótese los cambios en la frecuencia y amplitud de las espigas en diferentes períodos de tiempo una vez aplicada estimulación eléctrica. Trazo **A** indica el registro antes del estímulo, **B<sub>1</sub>** y **B<sub>2</sub>** son registros antes y después del estímulo obtenido en días donde ya ha ocurrido la primera postdescarga epileptiforme. En **C** se observa evidencia de una postdescarga antes de la aparición de la primera convulsión conductual clónica. **D** hace referencia a la actividad antes y después de la postdescarga, inicialmente sin presentar convulsiones, durante la fase clónica y en un episodio de espigas espontáneas ocurridas 20 segundos después. Traducido de Goddard, McIntyre, & Leech, 1969.

Estos experimentos demuestran que el llamado “efecto *kindling*” puede ser provocado en diferentes especies, que van, más comúnmente, desde los mamíferos como la rata, ratones, conejos, perros, gatos y monos, hasta especies con menor desarrollo cortical como los reptiles y anfibios. Con los datos obtenidos del *kindling* en animales que se encuentran en diferentes grados de la escala filogenética se tiene un acercamiento sobre la relación de parentesco entre taxones tomando en consideración el tamaño y anatomía del cerebro, así son necesarias 14 estimaciones en una rata para provocar una crisis convulsiva generalizada tónico-clónica (CCGTC), 25 en gatos y 248 en monos (Wada, 2001).

### 2.1.2. Vías de propagación cerebral en el *kindling*

La investigación en el *kindling* ha mostrado que los circuitos límbicos, con algunas variaciones entre los sitios de estimulación, son altamente susceptibles a generar crisis debido a una rápida propagación de la actividad epileptiforme a otras regiones cerebrales. Es posible que, en la circuitería del sistema límbico, el *kindling* tenga grandes similitudes con la condición epiléptica humana, pues



las conexiones entre los cerebros de dos especies son parecidas al menos en términos de la organización general de las vías que los conectan. En la propagación de las crisis puede haber dos categorías: a) el circuito de iniciación y b) las vías de propagación. La primera hace referencia a un área restringida del cerebro donde comienza la crisis y se mantiene en un foco epileptógeno. El segundo refiere al proceso por el cual circuitos cerebrales adicionales son reclutados, facilitando la propagación y presentándose crisis continuas. Las observaciones hechas durante estudios con *kindling* se pueden interpretar considerando vías anatómicas y sus conexiones, examinando el flujo de la actividad convulsiva a partir del sitio de estimulación, así como el papel que juegan diferentes estructuras en su generalización. Son dos hipótesis sobre la circuitería implicada en la iniciación de una crisis las que se han propuesto a partir de los estudios anatómicos en el *kindling*.

En la primera de ellas interviene el circuito trisináptico del lóbulo temporal donde se encuentra la CxEn, el GD y las áreas CA del hipocampo. La crisis comienza y se vuelve reverberante en el GD, el cual es considerado una especie de “barrera”, conteniendo el reclutamiento de la crisis hasta que la actividad se fuga, propagándose y generalizándose hasta regiones de la corteza. No obstante, esta hipótesis entra en conflicto con lo reportado en la epilepsia humana, donde la remoción de una o más regiones que interrumpen el circuito trisináptico algunas veces no tiene impacto sobre la ocurrencia de crisis.

Debido a esto es que se han investigado algunas otras vías que reclutamiento neuronal durante las crisis. Otro circuito propuesto en las crisis de la epilepsia límbica está basado en la existencia de múltiples sitios independientes que tienen conexiones en común en una región central, permitiendo la generalización. Las estructuras límbicas que son muy sensibles al *kindling* tienen conexiones recíprocas con el núcleo talámico medial, incluyendo el dorsal medial y el núcleo reuniens, los cuales tienen proyecciones hacia algunos sitios neocorticales. La existencia de éstos circuitos tálamo-límbicos podría relacionarse con estructuras asociadas al *kindling* en diferentes sitios como la AM, CxPir y el claustró, todos presentando pocas conexiones con la vía trisináptica hipocámpal (Bertram, 2007).

Wada & Sato (1974) observaron el proceso de propagación en crisis inducidas por KEA, reportando que durante la instalación de la epileptogénesis (correspondiente a la aparición de crisis parciales) la PD producida manifestaba un patrón de propagación que involucraba a la sustancia *nigra* ipsilateral, el putamen y el globo pálido con un subsecuente reclutamiento neuronal en el putamen, globo pálido y la AM contralaterales. Finalmente, la actividad se extiende a la formación reticular ipsilateral del mesencéfalo, el núcleo dorsomedial del tálamo, culminando en las cortezas frontoparietales. Durante la

transición a crisis generalizadas la PD se propagó rápidamente a la formación reticular contraletal del mesencéfalo, envolviendo a la AM, globo pálido y putamen contralaterales. Esta misma actividad se vio involucrada en las CCGTC con una asincronía hemisférica inicial que casi simultáneamente termina en una diseminación de la PD a todo el cerebro presentando patrones bisimétricos. La terminación de la actividad se presentó primero en el hemisferio ipsilateral al sitio de estimulación para terminar en la región contralateral.

Los patrones en la PD durante el *kindling* indican que el inicio de la sincronía se presenta durante las crisis parciales, así la emergencia de actividad en la formación reticular del mesencéfalo ipsi y contralateral indican la transición hacia crisis generalizadas que eventualmente culminan en un patrón total de sincronización. Independientemente del patrón de descarga es la activación de de esta estructura el pre-requisito electrográfico más importante para la progresión hacia las CCGTC.

Racine en 1975 identificó que la actividad electrográfica y conductual en el desarrollo de las crisis en regiones paleocorticales era similar al desarrollo ocurrido en estructuras del sistema límbico. Las descargas iniciales tienden a permanecer localizadas con una ligera propagación a estructuras contralaterales excepto en el cíngulo y en la corteza frontal cíngulada que muestran una mayor propagación transhemisférica durante la fase inicial de la PD al tiempo que se activa la CxPir.

Fernandez-Mas, Martínez, Gutiérrez y Fernández-Guardiola en 1992 a través de registros en la actividad cortical y análisis de potencia observaron que al estimular la AM se genera una propagación que es inicialmente focalizada en las cortezas prefrontales, el giro ectosilviano y silviano ipsilateral con generalización secundaria a zonas parietales y frontales ipsilaterales durante crisis parciales. Después de la activación prefrontal se da una activación contralateral del lóbulo temporal, siendo la activación de las áreas corticales contralaterales un indicador de la epileptogénesis secundaria. El incremento en la potencia espectral del lóbulo occipital refleja el término de este proceso. Con ello describieron cuatro componentes de activación durante el KEA, un patrón de activación cortical que sigue una dirección asimétrica temporo-fronto-occipital, siendo el lóbulo temporal ipsilateral la primera zona activada seguida de las áreas prefrontales ipsilateral y contralateral, culminando con la activación temporal contralateral como un fenómeno tardío. Así se concluye que las manifestaciones electrográficas y conductuales de este modelo son de forma asimétrica durante todo el proceso, incluyendo los estadios de crisis motoras (convulsivos) que presentan generalización. Estos resultados son consistentes con lo hallado por Shi, Luo, Woodward, McIntyre & Chang en 2007 quienes reportaron que la estimulación amigdalina emite descargas ictales que llegan

primero a la corteza sensoriomotora y sustancia *nigra pars reticulata* para después extenderse hacia el hipocampo y al núcleo subtalámico, culminando con la activación de la AM y de la sustancia *nigra* contralaterales. La interrupción o completa eliminación de transferencia de esta actividad hemisférica se ha visto al seccionar la sección media del cuerpo calloso, proponiendo a esta región como clave en la propagación interlímbica (Wada, 2001).

Mediante tomografía por emisión de fotones se puede localizar el sitio de comienzo en la actividad ictal y los cambios de propagación en la perfusión cerebral que ocurren durante las crisis. Cleeren y colaboradores (2015) emplearon esta técnica para describir los cambios graduales en la perfusión cerebral durante el KEA en monos rhesus, reportando regiones cerebrales localizadas a través del cortex y en algunas estructuras subcorticales. Se observó que algunas de estas regiones mostraban un incremento en la perfusión durante todas las fases de evolución de la epileptogénesis y otras mostraban variaciones de hiper e hipoperfusión. Durante los estadios iniciales del KEA se reportó una hipoperfusión del cortex frontal y de los ganglios basales. La corteza motora primaria, corteza parietal, corteza cingulada y el cerebelo ipsilaterales mostraron hipoperfusión al término de las crisis parciales que rápidamente se hiperperfundieron al establecerse crisis generalizadas. Las regiones que mostraron mayor actividad durante todas las fases de evolución fueron la corteza temporal y occipital, el putamen, la AM central y el tálamo con propagación hacia la corteza frontal, parietal, temporal y occipital contralaterales, culminando con la manifestación de los estadios más severos de la epileptogénesis.

En otro experimento, estos mismos investigadores en 2016 estudiaron la conectividad funcional entre regiones anatómicamente conectadas con el foco convulsivo en monos sometidos a *kindling*, reportando activaciones y desactivaciones en estructuras corticales y subcorticales. También se observaron incrementos de conectividad en el tálamo medial, globo pálido contralateral y en cerebelo bilateralmente, además de presentarse disminución en putamen, lóbulo frontal e ínsula ipsilaterales. También se observó activación bilateral de la AM, núcleo caudado y corteza cingulada con una disminución en el polo temporal, la corteza visual primaria y corteza orbitofrontal.

### **2.1.3. Cambios permanentes**

Debido a que el *kindling* es considerado un modelo animal crónico de epilepsia límbica y de epileptogénesis, la investigación se ha enfocado en examinar las alteraciones que se originan por la estimulación eléctrica periódica. Estos cambios progresivos son causados por una reorganización funcional permanente del cerebro (Wada & Sato, 1974). De esta manera es posible

analizar las modificaciones que son generadas en el proceso de epileptogénesis en sus diferentes componentes, ya sean electrofisiológicos, conductuales, morfológicos, celulares y moleculares, entendiendo los mecanismos básicos que subyacen para así probar estrategias terapéuticas que disminuyan la progresión de la enfermedad.

### **2.1.3.1. Alteraciones electrofisiológicas y conductuales**

Al aplicar estimulación eléctrica periódicamente en regiones específicas del cerebro se presentan alteraciones funcionales permanentes, observándose un incremento en la duración y severidad de las crisis, reduciéndose así el umbral de corriente necesario para evocar una postdescarga (Goddard, McIntyre & Leech, 1969; Racine, 1972).

Durante el KEA, la respuesta de la crisis focal inicial se caracteriza principalmente por una descarga epileptiforme que comienza en el sitio de estimulación. Con una activación repetida, la respuesta comienza generalizándose mediante crisis clónicas bilaterales, en este punto inicial, la postdescarga presenta notables modificaciones, aumentando su duración, amplitud y frecuencia (Morimoto, Fahnestok & Racine, 2004).

Por ejemplo, en el curso progresivo de la epileptogénesis, la PD desarrolla modificaciones en su morfología. En este proceso se pueden notar cuatro componentes. El primero de ellos se presenta inmediatamente después de la estimulación, que consiste en actividad paroxística de baja frecuencia (de 3 a 6 Hz) que culmina con un período de corta duración (hasta 1 s) de depresión postictal.

El segundo componente surge del silencio postictal, comenzando con actividad fusiforme con frecuencia media de 4 a 6 Hz y duración media de 4 a 9 s, finalizando con una reducción de la actividad paroxística.

El tercer componente inicia con actividad moderada de espigas de gran amplitud y frecuencia de 4 a 6 Hz que es crucial para el incremento de la duración en la PD. Este componente se puede dividir a su vez en 2 subcomponentes:

1. El proceso de “instalación”, que se produce al finalizar la actividad fusiforme y se caracteriza por la aparición de espigas de alta frecuencia (> 6 Hz).
2. En la segunda parte se presentan espigas de alta frecuencia y bajo voltaje que se intercalan con otras de alto voltaje hasta culminar en una

reducción gradual de la severidad durante la crisis produciéndose una depresión en el EEG.

Durante el cuarto componente aparecen poliespigas con actividad tipo *burst* (ráfaga) de alto voltaje con detenimiento súbito de la conducta que dura alrededor de 1 a 3 s (Fernández-Mas, Martínez, Gutiérrez & Fernández-Guardiola, 1992).

A pesar de que es posible analizar en el EEG características en el dominio de la frecuencia, éstas son sólo componentes elementales, es decir la frecuencia de aparición de la amplitud y forma de una onda en particular, como la actividad fusiforme en las crisis inducidas por *kindling*, por lo que un análisis que represente los componentes aleatorios de una señal como el EEG descritos en una función numérica se hace necesario. El análisis computacional de las señales eléctricas digitalizadas en el dominio de la frecuencia se hace mediante la transformada de Fourier, que genera un estimador espectral proporcional a la densidad de energía de la distribución en las amplitudes, teniendo así un valor de potencia espectral (Fernández-Mas, Valdés, Martínez, Magdaleno, Almazán, Martínez & Fernández-Guardiola, 1998).

En análisis de potencia se ha observado que el *kindling* amigdalino provoca cambios en la densidad de poder espectral en las bandas de baja frecuencia, específicamente una disminución de 1 a 3 Hz para luego presentarse un incremento en la banda de 4 a 6 Hz, durante el proceso de instalación. Estos cambios fueron persistentes hasta 1 mes después de presentar 6 CCGTC en un período libre de estimulaciones (McIntyre & Chew, 1986).

Tsuchiya y Kogure en 2011 reportaron un incremento en los componentes beta y gamma durante la postdescarga que parecen regular el proceso de generalización de las crisis. Esto se asocia a la desaparición de actividad de baja frecuencia que resulta en un incremento de potencia en las bandas de alta frecuencia. Se ha reportado también que existen diferentes fases durante la postdescarga evocada por *kindling* que presentan variaciones en la potencia dependiendo del estadio conductual y del tipo de patrón de actividad en el EEG.

Musto, Samii y Hayes en 2009 encontraron un fenómeno similar, durante el proceso de instalación de la epileptogénesis (correspondiente a los estadios 1 y 2 de Racine) hubo un incremento de potencia en las frecuencias menores a 20 Hz en el 80% de los animales estimulados, predominando la actividad de poliespigas seguidas de complejos espiga-onda. En los estadios finales (4 y 5) la potencia se incrementa hasta alcanzar frecuencias de 40 Hz, específicamente la actividad de espigas con periodos silentes y las espigas repetitivas con amplitud y frecuencia irregulares se concentraron en las bandas

menores a 20 Hz y 15 Hz respectivamente, mientras que el componente de espigas ahusadas se concentraron en la banda de los 20 – 40 Hz.

Se observa que durante la fase de instalación (estadio 1 y 2 de la escala de Racine) la actividad del patrón tipo espiga-onda aparece inmediatamente después de la estimulación en combinación con un complejo de poliespigas que se superpone, donde la potencia predomina en la banda de 10-20 Hz. No obstante, durante la fase de generalización (estadio 4 y 5) el número de espigas incrementa, disminuyendo el período de DIE y perdiéndose el componente de onda observado en los estadios previos, de manera que se establece actividad tipo ráfaga con diferentes amplitudes. La dinámica de potencia muestra un incremento en el componente beta (13-15 Hz) y presencia de actividad en la banda gamma (20-40 Hz).

Anatómicamente se han encontrado diferencias en la amígdala dependiendo del hemisferio que se estimule. Durante el período ictal con foco en la AM derecha se ve un incremento en la potencia comparado con la AM contralateral (izquierda), sin embargo, este proceso parece invertirse en el período post-ictal con un decremento en el foco primario que tiende a elevarse hacia el foco secundario (AM izquierda) (Adamec, Stark-Adamec, Burnham, Bruun-Meyer, Perrin & Livingston, 1981).

Existen también diferencias al efectuar estimulación unilateral o bilateral en el sistema límbico. Al comparar la progresión de la epileptogénesis de animales sometidos al *kindling* unilateralmente en el hipocampo derecho e izquierdo contra la aplicación bilateral del estímulo se observa que esta última interfiere con el establecimiento de las CCGTC pues se necesita de aproximadamente 1.5 veces más en estimulaciones para presenciar el estadio V según la escala de Racine, fenómeno que no se presenta en la estimulación unilateral con aproximadamente 0.71 menos veces en estimulaciones para presentar ese estadio. Además, hay fuertes correlaciones positivas entre la actividad de bandas de alta frecuencia (12-30 Hz) y los componentes de duración, frecuencia y estadio conductual en la PD al aplicar el procedimiento de estimulación unilateral, sugiriendo que aplicar estimulación bilateral podría tener un papel de antagonización en el desarrollo de la epileptogénesis (Tsuchiya & Kogure, 2012).

También es posible analizar la dinámica espacio-temporal en la sincronización de fase o coherencia de la onda durante la epileptogénesis por KEA. Esta medición indica la sincronización entre regiones cerebrales funcionales en distintas bandas de frecuencia. Las descargas generadas por KEA presentan una integración transitoria a gran escala de las oscilaciones (hipersincronía) que se observa también en la epilepsia.

Se ha reportado que existe un incremento significativo en la sincronización de fase en distintos períodos de tiempo y estadios de evolución durante las crisis por *kindling* en estructuras como la AM, la región CA1 del hipocampo y el núcleo dorso-medial del tálamo, siendo las crisis parciales secundariamente generalizadas las que presentan el mayor incremento en el grado de coherencia.

La presencia de actividad sincronizada en la banda teta está positivamente relacionada con la intensidad de las crisis, misma que se ve aumentada en la dupla anatómica AM-CA1 del hipocampo durante períodos enteros de crisis no convulsivas, parciales y generalizadas. Este efecto es diferencial cuando se presentan altos grados de coherencia con el tálamo pues sólo se observan después de las crisis parciales y durante las crisis generalizadas (Li, Li, Gong, Liang, Zhang & Lu, 2016).

Estos cambios electroencefalográficos generan alteraciones en la respuesta conductual. Con cada estimulación subsecuente las postdescargas comienzan a generalizarse acompañándose de crisis motoras (Kalynchuk, 2000).

En 1972 Racine aplicó estímulos eléctricos en ratas con pulsos cuadrados bifásicos de 1 ms a 60 Hz con duración de 1 s en AM e hipocampo. Los animales desarrollaron crisis motoras con cambios conductuales progresivos que se relacionaron con actividad EEG. Las crisis motoras fueron valoradas en una escala de 5 puntos en función de la severidad observada. Inicialmente se presentaba actividad motora no esquelética que electrográficamente se relacionaba con una PD, finalizando conductualmente con inmovilidad.

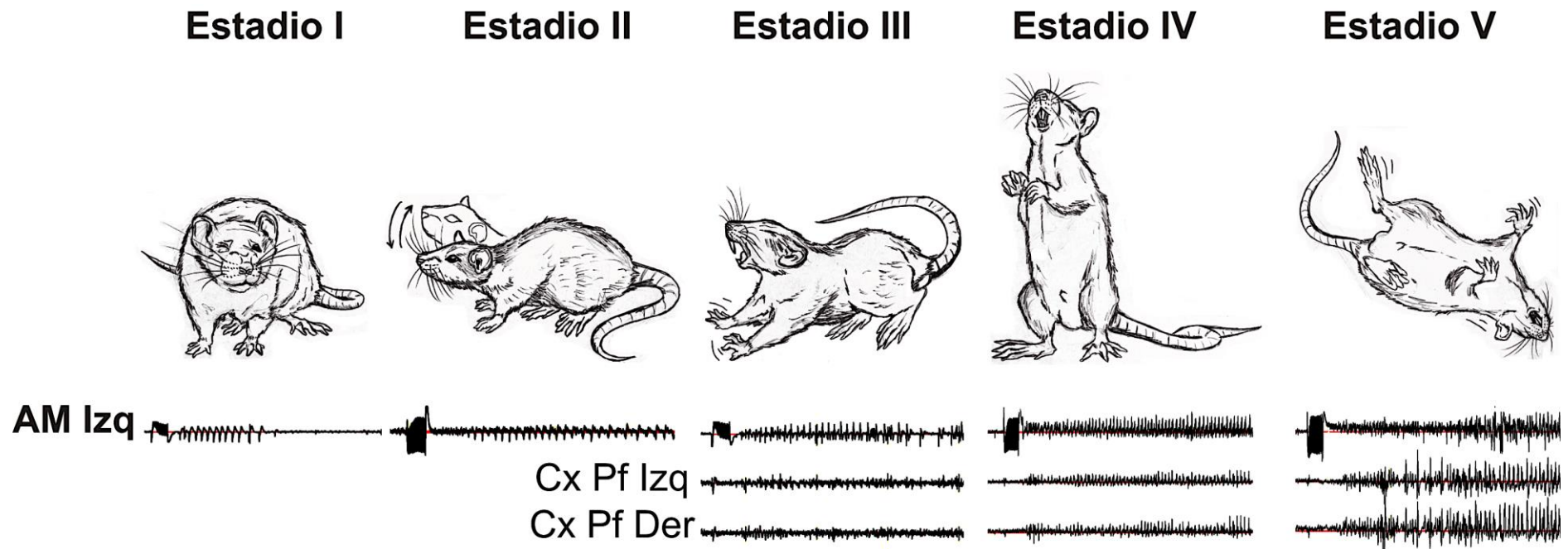
Los primeros signos evidentes de crisis con actividad esquelética manifestaban movimientos rítmicos de la boca (masticaciones) y cabeceos (*head nodding*) alrededor de 2 o 4 días después de la aparición de crisis motoras completas. Así progresivamente se observaron contracciones de los miembros anteriores, levantamiento del tren anterior (*rearing*) y finalmente, durante la crisis motora completa, pérdida de la postura. Existen algunas variaciones en la progresión, sin embargo, el 80% de los sujetos que son estimulados en el complejo amigdalino manifiestan los cambios descritos.

De esta forma el desarrollo de las crisis motoras se puede clasificar en 5 estadios conductuales: 1) movimientos faciales (guiño ipsilateral, guiño bilateral o twitching y movimiento de vibras); 2) movimiento de cabeceo o head nodding y masticación; 3) mioclonias de los miembros anteriores; 4) levantamiento del tren anterior o rearing; 5) mioclonias generalizadas, pérdida de la postura y caída.

Estos cambios progresivos en la conducta tienen su correlato en el EEG descrito por una modificación de la postdescarga evocada por la estimulación que se asocia a un aumento en su frecuencia y duración como se observa en la figura 7. El crecimiento progresivo en la actividad es inicialmente confinado al sitio de estimulación (en AM, por ejemplo) con una duración típica de 6 segundos que paulatinamente se generalizan a áreas cortico y subcorticales que se acompañan después de las DIE y las convulsiones espontáneas, dos eventos epilépticos asociados a la activación del complejo amígdala-corteza piriforme, que genera una gran parte de estos eventos (Fernández-Guardiola et al., 1996).

Además de las variantes observadas en la conducta motora del animal se producen un número de alteraciones interictales que ocurren tanto en animales estimulados parcial y completamente, lo que sugiere que el *kindling* es un buen modelo animal para estudiar cambios conductuales asociados al proceso de epileptogénesis y ligados a alteraciones emocionales y cognitivas, un estímulo epileptogénico repetido eventualmente produce estas modificaciones.





**Figura 7. Progresión conductual y EEG de la epileptogénesis en crisis inducidas por KEA.**

Nótese los cambios en la respuesta conductual y su correlato electrofisiológico, iniciando con crisis parciales hasta culminar con la presencia de una CCGTC, el inicio de la estimulación produce un cambio dramático en duración y frecuencia además de presentarse una fuga de la actividad epileptiforme a otras áreas cerebrales. Abreviaturas: AM Izq, amígdala izquierda; Cx Pf Izq, corteza prefrontal izquierda; Cx Pf Der, Corteza prefrontal derecha. Elaboración propia.

A pesar del amplio rango de cambios conductuales que se han observado en la ELT, son los relacionados al miedo y a las conductas tipo ansiosas los que más se han modelado en animales de laboratorio usando el modelo de KEA. La AM o complejo nuclear amigdalino regula la expresión de conductas tipo ansiosas debido a su participación en la modulación de respuestas emocionales. Compuesta por diversos núcleos y subnúcleos, estimular la AM puede generar efectos ansiógenos y ansiolíticos (Hidalgo-Balbuena, 2016).

Dependiendo del sitio de estimulación se pueden presentar respuestas conductuales diversas con efectos opuestos en conductas tipo ansiosas después de aplicar *kindling* con duraciones variables. Se ha observado que se presenta un incremento en la vulnerabilidad de hiperfunción límbica debido a estrés producido por KEA. La estimulación unilateral de la AM centromedial provoca el aumento en la reacción a los estímulos en roedores 24 horas después de la última crisis (Adamec, 1990). El *kindling* que produce PD que no llegan a generalizarse o *kindling* parcial (KP) en la AM o en el hipocampo ventral en gatos produce cambios conductuales relacionados con la aparición de convulsiones motoras y el inicio de la actividad de picos interictales y su mantenimiento. Después del KP, los gatos presentan un incremento en sus conductas defensivas. En roedores se ha reportado que el KP en AM provoca una disminución en la exploración de brazos abiertos en la prueba de laberinto elevado en cruz, que se asocia a un incremento de conductas tipo ansiosas. Durante el *kindling* a corto plazo (KCP), que involucra la aparición de 3 a 5 CCGTC, se han visto efectos contrarios al estimular en la AM izquierda o derecha. La AM basolateral derecha tiene efectos ansiogénicos mientras que la basolateral izquierda tiene efectos ansiolíticos. Los cambios asociados a la activación del núcleo basolateral se describen por una disminución de conductas exploratorias, incremento de inmovilidad en interacción social e incremento en niveles del neuropéptido liberador de la hormona corticotropina (NLHC).

Cuando el período del protocolo se extiende hasta más 60 estimulaciones con al menos 5 CCGTC se crea el *kindling* a largo plazo (KLP) que produce cambios emocionales asociados a actividad interictal, más intensas que las manifestadas en el KP y en el KCP. Se observa una disminución de la actividad exploratoria en campo abierto e incrementos en la actividad de brazos cerrados en el laberinto elevado en cruz, asociado con un aumento de conducta defensiva a ser capturada. La hiperexcitabilidad neuronal amigdalina y la aparición de conductas defensivas asociadas a la activación del circuito amígdala-vía periacueductal se han relacionado con modificaciones funcionales al sitio de unión a benzodiazepinas en el receptor GABA<sub>A</sub> y a la producción del NLHC (Adamec, 2000; Ehlers & Koob, 1985; Kalynchuk, 2000).

Otros cambios conductuales relacionados al *kindling* es la aparición de la depresión conductual post-ictal (DCP), un fenómeno que ocurre después de la terminación de una CCGTC. La DCP está caracterizada por la inmovilidad del animal y la falta de reactividad a estímulos ambientales, tales manifestaciones indican la iniciación de una posible nueva crisis o la reducción de la severidad de crisis subsecuentes. Al menos en el modelo de *kindling* existe un componente opioide para la DCP, que al ser sobreactivado incrementa la aparición de ese tipo de conductas. Los efectos del NLHC durante la postdescarga generada por *kindling* reducen la duración de la actividad post-ictal y de la DCP. Estos péptidos tienen actividad agonista o antagonista, dependiendo del receptor opioide al que se acoplen. Utilizando antagonistas de este sistema (naloxona y naltrexona) se presenta una reducción de la DCP, no obstante, la naturaleza de este fenómeno varía dependiendo del origen de las crisis. Específicamente, la estimulación amigdalina provoca DCP de corta duración (Cottrell, Nyakas & Bohus, 1988). Tales resultados indicarían que la progresión del *kindling* disminuiría la aparición de este componente que parece manifestarse transitoriamente, así el proceso de estimulación que incluya la aplicación de KLP incrementaría los niveles de NLHC reduciendo por tanto la actividad post-ictal.

### **2.1.3.2 Alteraciones anatómicas y morfológicas**

Como ocurre en la ELTM, el *kindling* eléctrico provoca cambios en la morfología neuronal, tales modificaciones se presentan durante y después del proceso de epileptogénesis. Cuando se aplica KCP se produce una pérdida neuronal mínima que no resulta en la aparición de crisis espontáneas. Al extender el proceso de estimulación se puede provocar una pérdida neuronal muy pronunciada y presentarse entonces crisis espontáneas. Tales alteraciones ocurren principalmente en el hipocampo durante el desarrollo del *kindling*, generándose una reorganización de las conexiones sinápticas en la vía de las fibras musgosas del GD como se ha descrito en la ELT. Después de presentarse 30 CCGTC existe una disminución neuronal en la región hilar polimórfica hipocampal. Esta zona se caracteriza por contener una población neuronal de diversa morfología que después de intensa actividad convulsiva presenta disminución de neuronas inhibitorias GABAérgicas, patrón que se extiende hasta CA1 en el hipocampo.

La reorganización sináptica de las fibras musgosas inducida por *kindling* también está asociada a pérdida neuronal en las regiones CA3 y CA4 en la región hilar debido a crisis en el modelo de AK. El KEA genera un decremento de neuronas GABAérgicas en la AM basolateral bilateral y en la Cx Pir central ipsilateral.

Procesos de deaferenciación han sido propuestos como mecanismos celulares en la reorganización neuronal por *kindling* con diferencias interhemisféricas. Existe una pérdida neuronal similar en el hilo del giro dentado ipsilateral y contralateral al sitio de estimulación. No obstante, sólo los procesos de reorganización se ven incrementados en la región ipsilateral. La discrepancia entre la pérdida neuronal y la extensión de reorganización sináptica sugiere que la actividad anormal en estas vías puede tener influencia directa sobre la reorganización post-deaferenciación (Cavazos & Stula, 1990; Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Singh, He, McNamara & Danzer, 2013).

Los procesos de muerte celular en esas regiones están asociados a la activación neuronal excesiva por glutamato que provoca excitotoxicidad. Estudios clínicos y experimentales han implicado este proceso en mecanismos asociados al SE o prolongadas y repetidas CE. En roedores, la actividad EEG convulsiva intensa debido a estímulos eléctricos en la vía perforante, CxEn y GD induce daño neuronal en el hilus y *sprouting* en las fibras musgosas, efecto que se previene con tratamientos activos en el sistema GABAérgico, como la administración de dosis sub-efectivas de pentobarbital. Los patrones de pérdida neuronal están asociados con el proceso de EschH, uno de los hallazgos neuropatológicos más comunes en la ELTM. Se ha observado que en roedores sometidos a KLP, que alcanzan el estadio V en diversas ocasiones, se genera una disminución en las densidades neuronales de estructuras límbicas en función del incremento de la aparición de crisis evocadas, específicamente reducción progresiva de población neuronal en la región polimórfica del hilus en GD, CA1 y CA3, en el *stratum granulosum* del GD, CA2, CxEn medial y lateral y núcleo endopiriforme rostral. Las disminuciones en la población neuronal tienden a ser mayores en el polo temporal que en el polo septal, sugiriendo que el polo temporal de CA1 es más vulnerable al daño neuronal después de 3, 30 y 150 CCGTC, hecho que revela los cambios permanentes en la reorganización celular y la susceptibilidad a crisis (Cavazos, Das & Sutula, 1994).

Debido a los incrementos de muerte neuronal por estimulación eléctrica, existe un proceso compensatorio de reorganización celular caracterizado por *sprouting* con conexiones excitatorias recurrentes y deaferenciación de interneuronas inhibitorias en el hipocampo. En la región afectada por este proceso, el *sprouting* de las fibras musgosas forma una banda aberrante en la capa molecular del giro dentado para establecer conexiones con las dendritas apicales proximales de las células granuladas. La degeneración celular provoca que tales terminales presinápticas formen sinapsis asimétricas de las células musgosas, disminuyendo progresivamente la función inhibitoria de forma proporcional al desarrollo de la epileptogénesis. Existen diferencias morfológicas consistentes de las dendritas

basales en células granuladas de ratas estimuladas, desarrollándose con mayor frecuencia en el polo hilar de los cuerpos celulares, muy separadas de los axones, los cuales envían sus colaterales a través de células granuladas en la capa molecular interna, indicando un proceso de reorganización en las fibras musgosas (Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Spigelman, Yan, Obenaus, Lee, Wasterlain & Ribak, 1998). Las alteraciones morfológicas de las dendritas están involucradas en cambios de concentración post-sináptica intracelular de  $Ca^{2+}$ , resultando en la hipertrofia de las espinas dendríticas basales, una condición que se ha observado en pacientes con epilepsia y en modelos experimentales. Kato y colaboradores en 2001 analizaron las características morfológicas y morfométricas de la hipertrofia dendrítica a consecuencia de crisis por KEA observando que en la región amigdalohipocámpal se ve un incremento en el crecimiento dendrítico de 1.3 a 1.4 veces en la región rostral del GD y de 1.8 veces en la región caudal de la capa granulada, tales alteraciones fueron mediadas por un aumento de polimerización en microtubulos, los elementos más prominentes en el citoplasma de dendritas largas. Cambios similares han podido ser observados durante estadios iniciales de la epileptogénesis inducida por KEA, como lo demostró Singh, He, McNamara y Danzer en 2013, observando un incremento uniforme en el grosor de la capa granular del hipocampo e incremento del volumen en el segmento inicial del axón contrario a la disminución en la densidad de espinas dendríticas dentro y fuera de la capa molecular con porcentajes de 30% y 21% respectivamente.

No obstante, se ha demostrado que el *kindling* aplicado de forma rápida causa un incremento en niveles de mRNA y proteínicos de GFAP, el componente principal de los filamentos que conforman los astrocitos maduros, provocando hipertrofia y proloferación glial ya sea en ausencia o no de pérdida neuronal o degeneración celular (Adams, Von, Vaccarella, Ivy, Fahnestock & Racine, 1998). Al aplicar *kindling* rápido (estimulaciones repetidas en pocas horas) en el hipocampo se provocan tales efectos. Smith, McLean, Murphy, Turnley y Cook en 2005 aplicaron KEA de forma rápida (pulsos monofásicos de 1 ms, duración de 3 segundos, 100 Hz, 40-300  $\mu$ A cada 5 minutos en 200 minutos) reportando un incremento de mitosis en la zona subgranular del GD entre 3 y 21 días después de la última crisis. Este resultado es confirmado al no presentarse degeneración neuronal en ninguna región del hipocampo. Otros cambios asociados a la aplicación del *kindling* rápido son alteraciones en la composición del citoesqueleto de los astrocitos. Se han reportado incrementos en la proteína GFAP, al inducir crisis por *kindling* hipocámpal. Al estimular repetidamente la amígdala (1s, 60 Hz, 400  $\mu$ A, cada 8 horas, de 5-7 días) hasta presentar 5 CCGTC se induce también un incremento bilateral de GFAP en la CxPir, hipocampo y el complejo amigdalino asociado a una hipertrofia de los astrocitos en estas regiones. Tales resultados

sugieren que durante el proceso de propagación en las crisis los astrocitos responden morfológicamente al *kindling* de forma selectiva, iniciando una reorganización conformacional del citoesqueleto (Khurgel, Racine & Ivy, 1992). Adams y colaboradores en 1998 reportaron hallazgos similares encontrando que cambios en la región hilar del hipocampo después de siete días y hasta un mes post-*kindling*, incrementa la presencia de GFAP hasta un 57 %.

Resumiendo, el *kindling* puede generar efectos contrarios dependientes de la duración del proceso de epileptogénesis. La aplicación de estímulos eléctricos en regiones del sistema límbico desencadena alteraciones morfológicas muy parecidas a las halladas en tejidos de pacientes con ELTM. El KCP y el KLP provocan neurodegeneración y reorganización celular aberrante en estructuras como la AM y el hipocampo. Sin embargo, los efectos son contrarios cuando se aplica *kindling* de forma rápida, desencadenando procesos de neurogénesis y mayor actividad astrocítica.

### **2.1.3.3 Alteraciones químicas y moleculares**

Las alteraciones en el EEG, conductuales, anatómicas y morfológicas debido a estímulos eléctricos se ven asociadas a cambios funcionales en la actividad química de la comunicación celular en cualquiera de sus niveles. La inducción de crisis por medio del *kindling* provoca cambios permanentes en la neurotransmisión excitatoria e inhibitoria, que se refleja en la hipersincronía de la red neuronal local. Todas las alteraciones desencadenadas por la estimulación repetida determinan la progresión desde el comienzo hasta el final del proceso epileptógeno que incluye la señalización de segundos mensajeros, proteínas quinasa, genes tempranos, factores de transcripción, síntesis de proteínas y cambios en los receptores que producen una reorganización de los circuitos que regulan la sinapto y neurogénesis, además de la pérdida neuronal que eventualmente contribuye a la reestructuración de las conexiones.

Se ha sugerido que tal fenómeno es debido a una serie de alteraciones en la transmisión inapropiada de GABA y glutamato. Una gran cantidad de investigaciones donde son utilizados modelos de epilepsia reportan alteraciones en la expresión de subunidades del receptor GABA<sub>A</sub> como un mecanismo compensatorio, no causativo, en particular la pérdida interneuronal, que es clave en los procesos de la excitabilidad por glutamato. Partiendo de que la composición de las subunidades de glutamato se regula dinámicamente de forma electrofisiológica, bioquímica, biofísica y farmacológica, la aparición de crisis modificaría el balance de excitación e inhibición. Ambos neurotransmisores son

cruciales en el inicio, mantenimiento y terminación de las CE que ocurren en pacientes con ELTM, por lo cual se ha hipotetizado que el *kindling* y las crisis desencadenadas por la epileptogénesis provocan un incremento en la activación de circuitos glutamatérgicos y activación atenuada de los GABAérgicos. Investigaciones más recientes sobre los mecanismos de la epileptogénesis en estos dos sistemas de transmisión química incluyen sus consecuencias en la eficacia sináptica, crecimiento de nuevas conexiones o pérdida de las ya existentes (Meguro, Lu, Gavrilovici & Poulter, 2004; Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004).

#### **2.1.3.3.1 Alteraciones asociadas al incremento de glutamato**

La liberación de aminoácidos excitatorios glutamatérgicos es un fenómeno que ocurre en crisis inducidas por *kindling* y podría explicar los mecanismos inhibitorios compensatorios que se generan en ese proceso. La sobreexcitación de neuronas por glutamato que puede producir descargas epileptiformes y la aplicación repetida de glutamato sobre la AM se le llama efecto tipo *kindling* glutamatérgico. La actividad de este neurotransmisor durante las crisis y después de ellas se comprueba por los efectos celulares que provoca al acoplarse a sus receptores NMDA, AMPA y kainato. El rol de los receptores metabotrópicos NMDA en el *kindling* eléctrico es demostrado por los experimentos en los que un pretratamiento de antagonistas selectivos y competitivos de estos receptores retarda el proceso de epileptogénesis, como algunos anticonvulsivos. A estos hallazgos se añaden el incremento agudo en los niveles del precursor glutamina en las terminales sinápticas como respuesta al estímulo que se mantiene sin cambios hasta tres meses después de alcanzar el estado *kindled*, incremento en la potenciación sináptica, *sprouting* de las fibras musgosas, neurogénesis del GD y expresión de neurotrofinas, todas alteraciones mediadas por el acoplamiento de glutamato a su receptor. Tales cambios provocan el aumento en la aparición de PPE en el GD con efectos diferenciales según la región del hipocampo. Las neuronas piramidales de CA1 tienen un efecto parcial sobre la despolarización inducida por los PPE dependientes de voltaje, mientras que CA3 tiene un aumento en su sensibilidad presentando mayor expresión de mRNA para las subunidades NR2A y 2B (Leach, Marden, Miller, O'Donnell & Weston, 1985; Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004).

Los efectos del *kindling* sobre la activación de los receptores ionotrópicos AMPA son aún más notables. La utilización de antagonistas de estos receptores suprime por completo el desarrollo de la epileptogénesis por KEA, evitando la aparición posterior de crisis espontáneas y disminución de potenciación a largo plazo (LTP).

Con un tratamiento de este tipo, las crisis originadas en el hipocampo se ven drásticamente disminuidas en su ocurrencia sin afectar la duración de la PD. Las crisis inducidas por KEA provocan un aumento en la activación de la subunidad AP-5 que es sensible a los PPE debido a la sincronía de eventos multicuánticos que genera y al incremento de probabilidad en la liberación glutamato. Otras alteraciones asociadas son la disminución de la subunidad GluR-2 en la CxPir caracterizadas por un cambio en la permeabilidad a  $Ca^{2+}$  e incremento en la formación de receptores AMPA, sugiriendo que la regulación descendente (*downregulation*) de las proteínas acopladas a GluR-2 son determinantes en el desarrollo del KEA. Por tanto, los receptores AMPA son cruciales en la inducción de crisis convulsivas debido a su permeabilidad iónica mientras que los NMDA son críticos en la inducción de alteraciones trans-sinápticas asociadas a los cambios permanentes de la epileptogénesis por *kindling* (Cain, 1998; Namba, Morimoto, Sato, Yamada & Kuroda, 1994; Shoji, Tanaka, Yamamoto, Maeda & Higashi, 1998).

El papel de los receptores de kainato en la epileptogénesis por *kindling* sigue sin ser claro. La activación de los receptores de kainato produce un incremento en la densidad y afinidad en los sitios de unión a glutamato de la zona supragranular del GD asociado al proceso de *sprouting* en las fibras musgosas. Varios reportes implican a la subunidad GluR-6 en la inducción de crisis, pues genera un aumento en la susceptibilidad y daño neuronal. No obstante, otra subunidad, específicamente la GluR-5 tiene un efecto protector contra las crisis al retardar la epileptogénesis. Su activación bloquea la propagación a nivel hipocampal. Interesantemente esta subunidad está densamente presentada en interneuronas que incrementan la respuesta GABAérgica. Los pacientes con EschH presentan un incremento en la subunidad KA-2 y de mRNA de GluR-5 en células granuladas, esto probablemente como mecanismo compensatorio para evitar el reclutamiento de otros grupos neuronales, aumentando el tono GABAérgico (Grigorenko et al., 1997; Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Represa, Le Gall La Salle, Ben-Ari, 1989).

Al incrementarse la actividad glutamatérgica en crisis inducidas por *kindling* se produce un efecto de potenciación sináptica bien descrito por un aumento sustancial en la amplitud y número de PPE en los circuitos límbicos. Este fenómeno es persistente y puede durar meses, por lo que se considera un mecanismo de epileptogénesis (Douglas & Goddard, 1975; Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Racine, Gardner & Burnham, 1972; Sutula & Steward, 1986). La potenciación sináptica por *kindling* es muy similar a la LTP, además de que este proceso facilita significativamente la evolución convulsiva. Procesos de potenciación no dependientes de NMDA contribuyen también a incrementar la



fuerza de las conexiones sinápticas a través de cambios en elementos presinápticos, postsinápticos o de ambos (Morris, Anderson, Lynch & Baudry, 1986; Morimoto, Fahnstock & Racine, 2004). Dentro de los mecanismos presinápticos se encuentra el aumento de concentración extracelular de glutamato, la despolarización induce la liberación presináptica de este neurotransmisor, aumentando sus niveles durante la epileptogénesis por *kindling*, procesos que se han reportado en estructuras como el hipocampo y la AM (Kaura, Bradford, Young, Croucher & Huges, 1995; Minamoto et al., 1992; Zhang, Hudson, Sobotka, Hong & Tilson, 1991).

Después de alcanzar el estado *kindled* se desencadenan procesos de reorganización molecular postsinápticos que predisponen al tejido a ser hiperexcitable. Los primeros cambios establecidos por el proceso de epileptogénesis se pueden notar en los receptores metabotrópicos glutamatérgicos (mGluR), específicamente el I y II que desregulan la liberación de glutamato. La utilización de agonistas en estos receptores ejerce efectos inhibitorios en la vía perforante lateral, sugiriendo que la pérdida de mGluR media la hiperpolarización necesaria para controlar la hiperexcitabilidad. Otros eventos intra-terminales que regulan la neurotransmisión glutamatérgica es el incremento a largo plazo del mGluR tipo I, que hidroliza las proteínas ptdlns y la persistente activación de subespecies membranales  $\beta$  y  $\gamma$  asociadas a la PKC debido a la movilización de  $Ca^{2+}$ , aumentando la neurotransmisión (Akiyama, Yamada & Otsuki, 1989; Akiyama et al., 1992; Ono, Akiyama, Tsutsui & Kuroda, 1994; Holmes, Keele & Shinnick-Gallagher, 1996; Morimoto, Fahnstock & Racine, 2004; Neugebauer, Keele & Shinnick-Gallagher, 1997).

Se han reportado también cambios en los transportadores una vez alcanzado el estado *kindled*. El KEA provoca un aumento transitorio del mRNA para el transportador EAAC1 (GLT1), el cual se encuentra mayormente en terminales presinápticas de interneuronas GABAérgicas. La inhibición de la actividad en EAAC1 resulta en el incremento de los niveles extracelulares de glutamato, proceso que se relaciona con procesos de neurodegeneración y excitotoxicidad. Este hallazgo es consistente con lo encontrado en pacientes con ELTM y EschH, donde se observan altos niveles de EAAC1 en células piramidales del giro dentado que al disminuir producen pérdida neuronal en CA1 y el hilus del GD (Mathern et al., 1999; Sepkuty et al., 2002).

Un efecto importante debido a la persistente hiperexcitabilidad glutamatérgica es la creación de nuevos circuitos. El crecimiento de conexiones excitatorias activa patrones de reorganización molecular que forman nuevos crecimientos celulares. La sinaptogénesis es un proceso de respuesta al daño tisular y a la estimulación

eléctrica, presentando una alta correlación con el *sprouting* neuronal que incluye a la ELTM (Morimoto, Fahnstock & Racine, 2004; Propper et al., 2001). Estos crecimientos provocan postdescargas a través de su desarrollo e imbricación, un proceso que se ha reportado como paralelo al mantenimiento y evolución del *kindling*. Respecto a esto se ha observado un incremento transitorio en la expresión de mRNA de GAP-43, proteína asociada al crecimiento de conos axónicos, y de la sinapsina tipo I que se relaciona con el funcionamiento de las vesículas en la terminal sináptica, ambos presentados en GD y CA3 hasta dos semanas después del estado *kindled*, tal proceso se correlaciona con *sprouting* de las fibras musgosas del hipocampo (Bendotti, Vezzani, Tarizzo & Samanin, 1993; Dalby, Rondouin & Lerner-Natoli, 1995). Otro proceso vinculado es la elevada tasa de división celular en células progenitoras de la zona subgranular proliferativa del GD, las cuales proyectan axones aberrantes hacia la región piramidal de CA3 y la capa molecular interna. Estos mismos mecanismos se presentan durante el establecimiento de los estadios iniciales del *kindling*. Otra estructura que presenta procesos de sinaptogénesis es la CxPir, estructura que proyecta hacia regiones hipocámpales. El aumento de sinaptofisina en las capas II y III y en el stratum radiatum de CA1 y CA3 se ha observado en animales con estado *kindled* (Li, Reinpercht, Fahnstock & Racine, 2002; Parent, Janumpalli, McNamara & Lowenstein, 1998; Scott, Wang, Burnham, Boni & Wojtowicz, 1998).

Los factores neurotróficos y de guía axónica también presentan alteraciones, son dos clases de moléculas asociadas al crecimiento y dirección celular. El *kindling* provoca la activación de neurotrofinas NGF, BDNF y NT-3, así como miembros del TGF- $\beta$  como el factor neurotrófico derivado de célula glial (GDNF). Tales moléculas se acoplan al receptor p75<sup>NTR</sup> y a la familia de receptores transmembranales TrkA (NGF), B (BDNF y NT-4) y C (NT-3), que generan la autofosforilación de sus residuos tirosina para conformar transductores de señales corriente abajo (*downstream*) y ejercer como factores transcripción genética. El aumento en el mRNA de NGF y BDNF se asocian al proceso de LTP y en la generación de axones de las fibras musgosas además de que se ha observado una correlación positiva con la duración de la PD, mientras que la movilización de Ca<sup>2+</sup> se asocia a NT-3, activando a la PKC (Bengzon et al., 1993; Ernfors, Bengzon, Kokaia, Persson & Lindvall, 1991; Kaplan & Miller, 2000; Miller & Kaplan, 2001; Roux & Barker, 2002; Morimoto, Sato, Sato, Yamada & Hayabara, 1998; Sato, Kashihara, Morimoto & Hayabara, 1996).

### 2.1.3.3.2 Falla de los sistemas de neurotransmisión inhibitoria

Debido a las alteraciones presentadas por la persistente activación de los sistemas excitatorios glutamatérgicos se presenta una reducción de los niveles de inhibición. Los sistemas GABAérgicos son modificados por la actividad convulsiva de manera que se facilita la propagación de actividad epileptiforme. Estos cambios son observados en receptores GABA<sub>A</sub> mediante PPI de forma rápida a través del flujo de Cl<sup>-</sup> y de GABA<sub>B</sub> con función presináptica de autoreceptores y la regulación lenta de los PPI al incrementar la conductancia de K<sup>+</sup> (Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004).

El proceso de epileptogénesis mediado por agentes GABAérgicos presenta fases iniciales de gran actividad inhibitoria como respuesta a la hiperexcitabilidad neuronal con la aparición de descargas epileptiformes, tales efectos homeostáticos se ven revertidos después de estimulaciones subsecuentes del sistema límbico que resultan en la aparición de crisis espontáneas. El estudio de la función inhibitoria mediante la evocación de pulsos pareados después del *kindling* permite conocer el efecto que ha ejercido la epileptogénesis sobre la eficacia del sistema GABAérgico para contener la actividad ictal e interictal. La disminución en el potencial del segundo pulso indica la acción de actividad inhibitoria ante un estímulo excitable. Inicialmente se presenta un incremento en la DPP dependiente de la activación de NMDA en el GD con un 66% aproximado de aumento en el tamaño cuántico del PPI de células granulosas. Este efecto se ve revertido después de 90-100 CCGTC, disminuyendo la DPP en los PPI, resultado que se aprecia también en CA1 de 3 a 4 semanas después del *kindling*. Respecto a la AM y la Cx Pir se presenta una pérdida de transmisión sináptica GABAérgica de tipo *feed-forward* (inhibición mediante el incremento de descargas interneuronales que resulta en la disminución de actividad en las células principales), lo que supone una reducción de PPI en la AM contralateral al sitio de estimulación (Gilbert, 1991; Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Nusser, Hajos, Simogyi & Mody, 1998; Rainnie, Asprohini, Shinnick-Gallagher, 1992; Sayin, Osting, Hagen, Ructecky & Sutula, 2003).

Durante el período ictal se incrementa la latencia en la pérdida de la DPP y el comienzo de la PD haciendo cada vez más resistente al GD a una falla inhibitoria, no obstante, poco a poco disminuyen las conductancias de los PPI, colapsándose el sistema. La evolución prolongada en las descargas durante el curso del *kindling* provoca mayores períodos de sincronización y aparición de DIE. Esto lleva a considerar que la intensa activación de receptores GABAérgicos produce despolarizaciones de magnitud proporcional, alterando la excitación durante el período ictal y propiciando la generalización de las crisis, altos niveles

extracelulares de GABA que producen complejos paroxísticos y crisis mioclónicas en ratas y gatos en estado *kindled*. Por tanto, son tres los mecanismos propuestos que están alterados en la neurotransmisión inhibitoria: a) reducción de la sensibilidad presináptica de GABA, b) desensibilización de la respuesta postsináptica a GABA en neuronas glutamatérgicas y c) la pérdida de regulación excitatoria de grupos celulares interneuronales (Asprodini, Rainnie & Shinnick-Gallagher, 1992; Kamphius, Gorter & da Silva, 1991; Morimoto, 1989; Tuff, Racine & Adamec, 1983).

A nivel presináptico se ha reportado que existe una insuficiente elevación de concentración extracelular de GABA dependiente de  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  durante las crisis por *kindling* hipocampal. Específicamente el KEA provoca un aumento de glutamato extracelular durante esos mismos períodos, fenómeno asociado a la reducción de inhibición independiente de  $Ca^{2+}$  y que es comparable con lo hallado en pacientes con ELT (During & Spencer, 1993; Kapur, Bennett, Wooten & Lothman, 1989; Kaura, Bradford, Young, Croucher & Hughes, 1995). Estas alteraciones podrían deberse a un aumento en los transportadores de GABA como consecuencia de los altos niveles iniciales de este neurotransmisor durante el proceso ictogénico. Se ha reportado un aumento en la expresión de mRNA para transportadores GAT1 (en terminales presinápticas GABAérgicas) en hipocampo y de GAT3 en astrocitos que poco a poco se ve reducida después de 90-100 crisis y hacia la aparición de crisis espontáneas. Pacientes con ELTM y EsCh presentan cambios similares, con una disminución de GAT1 en el *stratum granulosum* y piramidal y un incremento en la capa molecular (During, Ryder & Spencer, 1995; Hirao et al., 1998; Mathern et al., 1999; Sayin, Osting, Hagen, Rutecki & Sutula, 2003).

Mientras que en los procesos postsinápticos se presentan cambios en los receptores de  $GABA_A$  en el sitio de unión a benzodiazepinas con un incremento en el GD, tales aumentos se presentan en el 75% de las sinapsis inhibitorias en el soma y el segmento inicial del axón, y en el 35-40% de los botones presinápticos de células granuladas. Respecto a  $GABA_B$ , se presenta una sobreexpresión de subunidades R1A y R2 en todo el hipocampo. Respecto al tipo de receptor se presenta un incremento en la expresión de mRNA para los tipos  $\beta_3$ ,  $\gamma_2/\gamma_{2L}$  de  $GABA_B$  y de  $\alpha_4$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_3$  para  $GABA_A$  en GD después del KEA, cambios asociados a la reducción de corrientes inhibitorias (Clarck, Massenburg, Weiss & Post, 1994; Coulter, 1999; Francis, Jung, Zhang, Ho, Cheng, McIntyre & Eubanks, 2001; Kamphius, De Rijk & Lopes da Silva, 1994; Nusser et al., 1998).

El cambio funcional en la inhibición mediada por GABA depende de la evolución en la epileptogénesis y de los diferentes patrones de daño neuronal y/o

reorganización como resultado de excitotoxicidad. La sensibilidad alterada en el ion de zinc ( $Zn^{2+}$ ) produce la activación de las fibras musgosas, y la autoinhibición en la liberación GABAérgica se ve disminuida. Debido a que este aumento es sensible a las concentraciones de este ion, la inhibición disminuye las crisis por la liberación de  $Zn^{2+}$  del *sprouting* aberrante en las fibras terminales musgosas de células granuladas (Buhl, Otis & Mody, 1996).

La reorganización sináptica debido a la activación de células excitatorias produce otros mecanismos compensatorios moleculares que regulan la actividad epileptogénica. La participación de neuronas reactivas a somatostatina que expresan neuropéptido Y se ha descrito con un incremento después de la estimulación eléctrica, este componente está colocalizado en interneuronas y es regulado por la unión de BDNF a sus receptores, además de que puede ser alterado de forma selectiva. Se ha observado que después del *kindling* eléctrico se presenta un incremento de corrientes inhibitorias asociadas a los receptores  $Y_2$  de las terminales glutamatérgicas y de mRNA en el hipocampo e interneuronas hilares, no obstante, éstas se ven disminuidas en el GD al reducirse la expresión de del receptor  $Y_1$  (Dalby, West & Finsen, 1998; Dragunow, Yamada, Bilkey & Lawlor, 1992; Morimoto, Fahnstock & Racine, 2004; Sloviter, 1991; Vezzani, Sperk & Colmers, 1999). Otros cambios asociados es el incremento inicial de colecistoquinina 24 horas después del estado *kindled* y su posterior disminución después de 90-100 crisis hallado en la AM. Esta hormona se encuentra interneuronas GABAérgicas del GD en sinapsis axo-somáticas y axo-axónicas de células granuladas. La colecistoquinina aumenta la tolerancia a los efectos del sistema opioide, causantes de la DCP asociada a la actividad post-ictal. Su disminución debido a la estimulación eléctrica sostenida se encuentra relacionada a la aparición de crisis espontáneas (Iadarola, Shin, McNamara & Yang, 1986; Morimoto, Fahnstock & Racine, 2004; Sayin et al., 2003; Zhang et al., 1996).

Otro de los mecanismos compensatorios está ligado al incremento de la hormona liberadora de tirotropina e histamina. El primero está vinculado a la plasticidad sináptica glutamatérgica. La expresión de mRNA de la hormona liberadora de tirotropina se ve incrementada después del KEA, provocando la reducción de LTP y de los PPE del GD. Respecto a la histamina se observa el incremento de unión a su receptor  $H_1$  a largo plazo después del KEA, disminuyendo la activación de la calcio calmodulina quinasa II para así evitar la fosforilación de proteínas que están implicadas en la neurogénesis aberrante (de Gortari, Fernández-Guardiola, Martínez, Cisneros & Joseph Bravo, 1995; Inuma, Onodera & Watanabe, 1996; Morimoto, Fahnstock & Racine, 2004; Sato, Morimoto & Wada, 1984; Morimoto & Goddard, 1985; Okuma, Hirai & Kamei, 2001; Yokoyama et al., 1999).

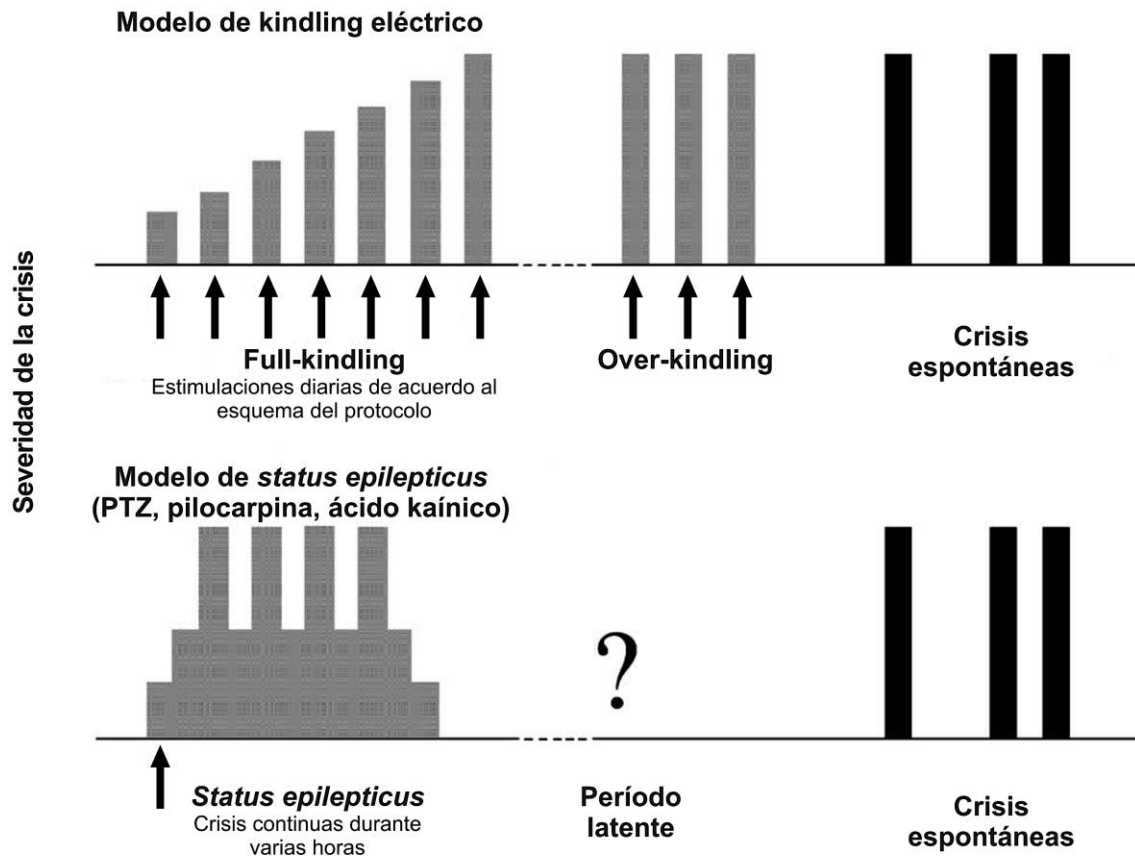
### 2.1.3.3 Aparición de crisis espontáneas

El *kindling* eléctrico es capaz de producir una serie de cambios progresivos en la respuesta convulsiva. De forma paulatina, las estimulaciones provocan una sensibilización en el cerebro ante la aparición de una crisis, estableciendo la inducción de crisis complejas parciales a crisis secundariamente generalizadas con un foco epileptógeno permanente dejando así al sujeto en un estado denominado *full-kindling*. Sin embargo, la aparición de actividad epileptiforme espontánea no se desarrolla a menos que se apliquen un gran número de estimulaciones más allá de la primera aparición de una crisis de estadio V (CCGTC). Al proceso por el cual se desarrollan las crisis espontáneas se le llama *over-kindling*, y a pesar de que llevarlo a cabo resulta una labor muy intensiva, las alteraciones neurofisiológicas y morfológicas que genera tienen muchas similitudes con la ELT. Aunque la inducción de crisis espontáneas puede llevarse a cabo de forma más rápida, el período latente de reorganización neuronal que se presenta antes de la actividad espontánea no es posible estudiarlo de forma gradual. El *kindling* eléctrico puede brindar la posibilidad de analizar los cambios progresivos en los patrones de propagación y de reorganización celular que se presentan en esos mismos períodos, como se explica en la figura 8.

La experimentación ha demostrado que son necesarias alrededor de 90-100 crisis de clase V (CCGTC) en roedores para provocar la aparición de crisis espontáneas recurrentes, fenómeno atribuido a la pérdida de inhibición en el hipocampo como consecuencia de la disminución de sinapsis axo-axónicas y axo-somáticas. Estos períodos de estimulación pueden extenderse incluso hasta los 14 meses en gatos y primates para inducir la misma condición (Sayin et al, 2003; Wada, 2001).

Las crisis de este tipo parecen seguir el mismo tipo de propagación progresiva que sus antecesoras durante el estado *full-kindling*. Las crisis espontáneas comienzan de forma ipsilateral al sitio de estimulación y poco a poco comienzan a generalizarse a todo el cerebro, además los componentes de frecuencia y duración se van acentuando, incrementando su severidad con respecto a roedores que no son sometidos a *over-kindling*. Las características EEG de las crisis espontáneas se caracterizan por la presencia de espigas aisladas durante la actividad inter-ictal y de la formación de complejos espiga-onda con un incremento en su frecuencia de manera persistente. A estas manifestaciones electrográficas le acompañan cambios conductuales descritos por espasmos mioclónicos aislados y cabeceos asociados a movimientos de uno o ambos miembros anteriores progresivamente en series de 20 crisis con un período de 1-25 minutos, culminando en CCGTC (Brandt, Ebert & Löscher, 2004). Este tipo de crisis persisten aún después de finalizar el esquema de estimulación, presentándose en

forma indefinida, con lo cual la propensión a apariciones subsecuentes de estos eventos ictales se ve incrementada (Sato, Racine & McIntyre, 1990).



**Figura 8. Desarrollo de la epileptogénesis y aparición de crisis espontáneas en el modelo de *kindling* eléctrico y *status epilepticus*.**

Las flechas negras indican la estimulación eléctrica o la administración de un agente químico. En el modelo de *kindling* eléctrico la estimulación repetitiva desencadena progresivamente crisis convulsivas. Si la estimulación se detiene en un estadio clase V (*full-kindling*) las crisis espontáneas no se desarrollarán, si la estimulación continúa, emergen crisis espontáneas después de cientos de crisis evocadas (*over-kindling*). Para el caso del modelo de *status epilepticus* el agente aplicado provoca la aparición del *status* que termina en un período de varias horas con crisis de gran severidad. Las crisis espontáneas surgen después de un período latente que dura semanas o meses, no obstante, los mecanismos fisiológicos y patrones de generación en estas crisis se desconocen. Modificado de Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004.

El cómo se originan las crisis espontáneas sin existir algún estímulo eléctrico que las provoque permanece sin ser esclarecido. Una explicación hipotética está basada en los mecanismos que subyacen a las crisis producidas por agentes químicos asociadas a la reorganización celular y molecular como consecuencia de la muerte neuronal, no obstante, este proceso parece no estar relacionado en las crisis inducidas por *kindling* eléctrico. Brandt, Uber y Löscher (2004) reportaron que no existen diferencias entre las densidades neuronales de los hemisferios ipsi y contralaterales en estructuras asociadas a la génesis y propagación de crisis como la AM, las regiones CA1 y CA3 del hipocampo ventral y dorsal, la capa de

células granuladas del GD, la CxEn, CxPir, núcleo endopiriforme dorsal y ventral, el tálamo mediodorsal, laterodorsal, paraventricular y central así como la sustancia nigra pars reticulata (Brand, Eber & Löscher, 2004).

La proporción de animales que manifiesta crisis espontáneas varía entre cada modelo. Por ejemplo, después de presentarse SE inducido por agentes químicos la mayoría de los sujetos presenta actividad espontánea con una tasa de hasta 90% en el desarrollo de las crisis que vincula a la pérdida neuronal por excitotoxicidad. La emergencia de este fenómeno es distinta en el *kindling* eléctrico, primero porque generalmente no todos los animales alcanzan a desarrollar crisis espontáneas, segundo porque no existen evidencias histopatológicas contundentes y consistentes en la pérdida neuronal hipocampal que comúnmente es relacionada con la epilepsia humana límbica a pesar de los procesos de reorganización sináptica posteriores a los largos periodos de estimulación (Bertram & Cornett, 1993). Alrededor del 50% de los animales estimulados llegan a manifestar crisis espontáneas, con lo cual se hipotetiza que quizá la diferencia de responsividad en los animales en comparación con los modelos químicos es una propensión genética específica en cada sujeto para desarrollar crisis espontáneas (Brand, Ebert & Löscher, 2004; Louis, Williamson & Darcey, 1987).

Inducir un proceso epileptógeno mediante la estimulación periódica también presenta ventajas, una de ellas y muy poco explorada es la condición de farmacorresistencia. Los esfuerzos por modelar experimentalmente este fenómeno han sido escasos y con resultados poco consistentes. En el siguiente apartado se explicarán algunas razones por las cuales el *kindling* eléctrico puede ser un buen modelo animal para estudiar los efectos parciales que tiene los tratamientos farmacológicos.

#### **2.1.3.4 Efecto de fármacos antiepilépticos sobre crisis por *kindling* eléctrico: validación clínica del modelo**

Las epilepsias parciales (focales) están entre los tipos de epilepsia con mayor dificultad para el control de las crisis. En adultos humanos, la ELT con crisis complejas parciales tiene la prognosis más pobre de todos los tipos, donde hasta el 70% de los pacientes es resistente al tratamiento, aún con los fármacos antiepilépticos más efectivos (carbamazepina, fenitoína, lamotrigina y gabapentina). A pesar de que es posible saber la causa del tipo de epilepsia, los mecanismos que originan la farmacorresistencia son todavía desconocidos. El escaso conocimiento sobre la naturaleza de este fenómeno ha llevado a un debate



abierto sobre si los procesos que lo provocan se establecen desde que se inicia el tratamiento o si se trata de un mecanismo progresivo de una subpoblación de pacientes.

Desafortunadamente en la actualidad existen pocos modelos animales que pueden ser usados para estudiar los mecanismos de la farmacorresistencia y de nuevas opciones de tratamiento para la epilepsia intratable. El modelo animal más extensamente caracterizado respecto a esto es el *kindling* eléctrico amigdalino, sustentando sus resultados en estudios a nivel celular y molecular sobre el establecimiento de tolerancia farmacológica. El KEA fue el primer modelo propuesto para investigar la epilepsia intratable en 1986. El efecto *kindling* involucra una potenciación progresiva de susceptibilidad a crisis, así como cambios funcionales en sitios cerebrales secundarios al foco debido a la repetición inducida de crisis parciales, de esta forma se provee de un poderoso modelo para investigar el porqué la patología se vuelve intratable. Las crisis evocadas por *kindling* son mucho menos sensibles a los tratamientos anticonvulsivos farmacológicos cuando son parciales que cuando son secundariamente generalizadas, como es consistente con la experiencia clínica (Coulter, McIntyre & Löscher, 2002).

Löscher, Jäkel y Czuczwar en 1986 realizaron experimentos para estudiar los mecanismos que desencadenan la resistencia farmacológica en un modelo de epileptogénesis, empleando para ello el KEA. Para el análisis se usaron fármacos de primera generación como fenitoína, primidona, fenobarbital y carbamazepina, y de segunda generación como ácido valproico, clonazepam y diazepam. La eficacia de los tratamientos fue evaluada en función de los efectos protectores contra crisis parciales complejas (estadios I, II y III) y crisis parciales con generalización secundaria motora (estadios IV y V). Todo los FAE fueron inefectivos para suprimir las crisis parciales, siendo la primidona, diazepam y clonazepam los menos efectivos con valores menores al 50% de control. Durante las crisis parciales con generalización secundaria se presentó un mayor efecto de los FAE, siendo el diazepam y el clonazepam los más efectivos. Sólo se presentaron efectos parciales (60-70%) en el control de crisis para carbamazepina y fenitonina, y una total inefectividad de la primidona. La eficacia de los FAE fue incluso menor para la supresión de las descargas amigdalinas. El 50% de nivel de protección sólo se alcanzó con fenitoína y ácido valproico. Otros FAE sólo tuvieron efectos medianamente parciales como el pentobarbital y carbamazepina, y otros inefectivos como las benzodiazepinas y la primidona. El efecto anticonvulsivo también fue evaluado en términos de latencia, duración y severidad de las crisis. El único FAE totalmente inactivo fue la primidona. La carbamazepina tuvo un efecto parcial en la latencia a la primera crisis y la fenitoína pudo reducir su

duración, sin embargo, en dosis muy altas (100mg/kg). La mayoría de los FAE provocó efectos adversos en dosis efectivas como sedación, disminución del tono muscular, hipotermia, ataxia y pérdida de reflejos. Estos resultados son consistentes con la experiencia clínica, donde pacientes con ELTM que presentan crisis parciales complejas tienen una alta tolerabilidad en tratamientos con FAE que son utilizados con mayor frecuencia (Picot, Baldy-Moulinier, Daurès, Dujols & Crespel, 2008) demostrando que este tipo de crisis tiene una prognosis desfavorable en el control farmacológico.

Varios factores que pueden ser importantes para comprender los mecanismos de la farmacoresistencia en subgrupos de ratas sometidas a KEA han sido estudiados desde la descripción de los primeros modelos. Los resultados arrojan que la farmacoresistencia no es debido a diferencias en la localización del electrodo en la amígdala, farmacocinética del compuesto, variaciones estacionales de la respuesta o el sexo del animal. La explicación mejor sustentada es que la tolerancia al fármaco podría ser una variante genética específica en la susceptibilidad general a la respuesta del tratamiento. Además de la genética otra posibilidad de explicación es el desarrollo de diferentes tipos de farmacosenibilidad durante el proceso de *kindling per se*.

En pacientes epilépticos existe una respuesta inmediata al FAE, aunque este efecto se pierde al incrementar la duración de la enfermedad, cuando la epilepsia se vuelve crónica. Cuando fue evaluada la respuesta a fenitoína después del *full-kindling* se observa que los animales que respondieron al fármaco antes del proceso de estimulación disminuyen su sensibilidad de respuesta, mostrando un efecto anticonvulsivo no significativo. Esto indicaría que el proceso de epileptogénesis induce no sólo cambios plásticos que predisponen a la aparición de crisis, sino que también ejercen alteraciones que podrían interferir con la eficacia de algunos FAE (Coulter, McIntyre & Löscher, 2002).

Cómo el *kindling* induce alteraciones cerebrales es crucial para determinar si el sujeto responde o no a FAE. Löscher en 2002 determina al final que un mecanismo está implicado en alteraciones funcionales de los transportadores farmacológicos y otro en cambios en la captura del compuesto, proponiendo a la dinámica de los transportadores de la barrera hemato-encefálica como un posible mecanismo relacionado a la tolerancia farmacológica. Mediante un análisis de microdiálisis cerebral en roedores sometidos a tratamiento con varios FAE se observó un incremento en los niveles extracelulares de fenitoína y carbamazepina, asociado a la actividad de la P-glicoproteína y de la proteína de acción multifarmacológica asociada a la resistencia (MRP). Ambos transportadores limitan fisiológicamente la penetración de los FAE. Substratos de estas proteínas

son también el pentobarbital, felbamato, lamotrigina y gabapentina (Löscher & Potschka, 2002). Una posible alteración de tales transportadores en células endoteliales contribuiría a la farmacorresistencia que se presenta en la clínica y modelos experimentales.

Es interesante observar que a pesar de que los FAE tienen un efecto parcial o una total ineffectividad en el control de las crisis en el modelo de KEA, si pueden generar efectos adversos que se incrementan conforme la dosis aumenta. El porqué sí se presentan estos efectos y no los terapéuticos siguen sin ser esclarecidos. La mayoría de los FAE actúan sobre el sistema de inhibición GABAérgico y los efectos adversos que provocan están asociados al incremento de esta actividad, no obstante parece ser que no es suficiente para controlar los procesos de hiperexcitabilidad e hipersincronización, al menos en las crisis parciales complejas con generalización secundaria que son inducidas en el modelo de *kindling* eléctrico, demostrando su potencial como un modelo de farmacorresistencia asociado a la ELTM con validez de apariencia (similitud patofisiológica y fenomenológica) y de predicción (el tratamiento utilizado reduce parcialmente las crisis). Existen, sin embargo, algunas variaciones en la aparición de las crisis. La primera es que a pesar de que con las suficientes estimulaciones el sujeto puede manifestar crisis espontáneas, su expresión no es universal para todos los animales sometidos a *over-kindling*. La segunda diferencia implica las alteraciones anatómicas asociadas a las estructuras límbicas. El patrón específico de pérdida neuronal y gliosis en hipocampo, AM y CxEn no se ha observado consistentemente en el *kindling* (Bertram, 2007, Bertram & Cornett, 1993).

Los cambios producidos por la inducción de estímulos eléctricos de forma periódica como método para establecer un foco epileptógeno presentan otras grandes similitudes con los fenómenos que se desencadenan durante el proceso de epileptogénesis en pacientes con ELTM, siendo así el modelo de *kindling* el modelo más relacionado con este síndrome por varias razones.

El primero y más importante de todos es la exactitud de la estructura que es estimulada y que puede provocar actividad convulsiva asociada a las mismas regiones cerebrales en la epilepsia humana tales como el hipocampo y AM.

Segundo, la actividad convulsiva registrada en el EEG es similar, con patrones oscilantes de poliespigas rítmicas que progresivamente aumentan en duración y frecuencia hasta la supresión terminal de la actividad eléctrica.

Tercero, los patrones conductuales asociados a la inducción del estímulo en los estadios I y II son sorprendentemente similares con las crisis parciales complejas

en la epilepsia temporal en los humanos. El detenimiento súbito de la conducta, los automatismos orales y la reducción de responsividad a estímulos externos son características comunes en el *kindling* y las crisis reportadas en la experiencia clínica. Una mayor similitud se presenta en los patrones conductuales de las crisis clase IV y V, pues los componentes clónicos motores de la generalización secundaria límbica en la actividad convulsiva se observan en roedores y humanos.

Cuarto, la farmacología anticonvulsiva en el *kindling* y en las crisis complejas parciales humanas tiene efectos muy parecidos. Pentobarbital, carbamazepina, valproato y diazepam pueden tener un buen control de las crisis, aunque al presentarse farmacoresistencia disminuyen sus efectos teniendo sólo un control parcial.

Quinto, la presencia transitoria de espigas interictales durante los registros EEG amigdalos e hipocámpales es otra característica común en el modelo de *kindling* y en crisis parciales complejas de la ELTM. La frecuencia de estos eventos entre humanos con epilepsia de equivalente severidad puede variar dramáticamente. Esta gran heterogeneidad existe también entre ratas *full-kindling* con su respectivo componente conductual, las crisis por sí mismas evocan de manera transitoria un incremento en la frecuencia de espigas interictales.

Sexto, a pesar de que un criterio clave para un modelo animal de epilepsia es que las crisis ocurran de forma espontánea, las ratas que son sometidas al proceso de *over-kindling* pueden desarrollar la aparición de crisis espontáneas. Tales eventos persisten después del esquema de estimulación, dejando al cerebro susceptible a presentar crisis indefinidamente.

Séptimo, el *kindling* puede ser replicado en primates. Los intentos por elicitar los cambios del *kindling* en monos *rhesus* resulta en una relativa casi inducción de crisis clase I, aunque casi sin éxito para las de clase IV y V observadas en roedores. Estos datos reflejan un tipo de resistencia asociado con las diferencias de sensibilidad entre ratas. Una explicación a este fenómeno es la diferente organización del sistema nervioso, el cual es clave en la propagación eléctrica y expresión conductual de las crisis límbicas. Sin embargo, en la experiencia clínica alrededor del 75% la frecuencia de las crisis complejas parciales excede por mucho la frecuencia de eventos epilépticos secundariamente generalizados. El hecho de que el *kindling* pueda ser parcialmente elicitado en primates subhumanos apoya la validez de este modelo. Además, en la experiencia clínica, la utilización de terapias electroconvulsivas se ve vinculada con la generación de crisis espontáneas en pacientes esquizofrénicos. La estimulación eléctrica periódica mediante electrodos intracraneales utilizada como terapia en dolor

crónico, depresión o Parkinson también puede provocar el establecimiento de un foco epileptógeno y desencadenar crisis parciales motoras y en algunos casos generalización secundaria, sugiriendo que el efecto *kindling* podría ser evocado en humanos (Bertram, 2007; Sato, Racine & McIntyre, 1990).

Dado el carácter progresivo de las crisis inducidas por el KEA, es posible la evaluación de nuevas terapéuticas (farmacológicas, quirúrgicas o de electroestimulación) encaminadas al control de esta enfermedad para determinar en qué fase de la progresión convulsiva el tratamiento puede tener una máxima eficacia. El empleo de este modelo permite monitorear los patrones de propagación conforme se van modificando los circuitos neurales que facilitan las crisis, ajustando la intensidad (dosis anticonvulsiva, parámetros de estimulación) y temporalidad (de manera preventiva o responsiva, pues las fases de iniciación, mantenimiento y terminación de las crisis presentan procesos neurofisiológicos distintos) del tratamiento en la forma que mejor convenga. La posibilidad de examinar la progresión paulatina de la epileptogénesis brinda la oportunidad de comprender en diferentes niveles los mecanismos por los cuales se establece un foco epileptógeno y cómo llega a generalizarse.

---

# CAPÍTULO 3

## SOBRE LOS TRATAMIENTOS DE LA EPILEPSIA

Con el objetivo de disminuir la gravedad y ocurrencia de las crisis epilépticas se han probado diferentes tratamientos de manera experimental y clínica. En este capítulo se abordarán cada uno de ellos, haciendo énfasis en su mecanismo de acción y los efectos que tienen sobre la epileptogénesis, así como los efectos secundarios que pueden alterar la calidad de vida y el funcionamiento de los pacientes.

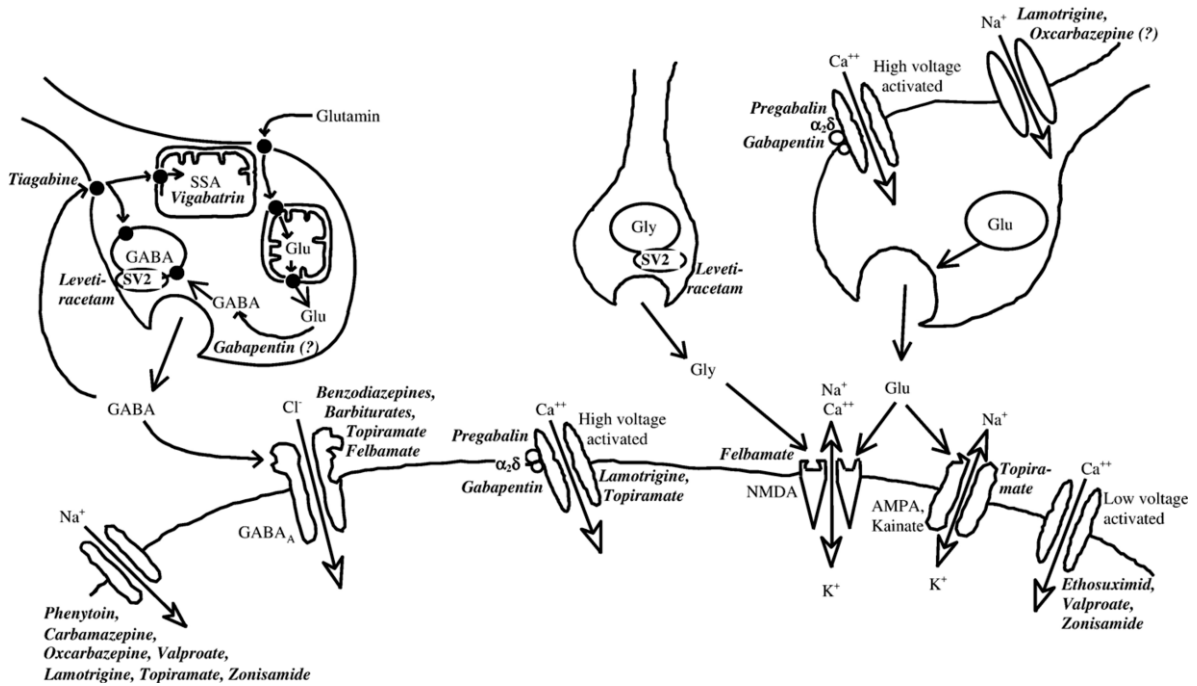
### **3.1. Tratamiento farmacológico**

Los FAE son la modalidad de tratamiento inicial para el control de la epilepsia, utilizándose en un amplio rango de pacientes. El tipo de fármaco es seleccionado de acuerdo al tipo de crisis y síndrome epiléptico basándose en un esquema de clasificación ya establecido. La ILAE en 1988 comenzó a desarrollar guías para asistir a los clínicos en el tratamiento de las crisis epilépticas (Glauser, Ben-Menachem, Bourgeois, Cnaan, et al., 2006).

De esta forma se han logrado estructurar enfoques prácticos para el tratamiento con fármacos y con ello la descripción de sus mecanismos de acción. Básicamente, los FAE alteran el balance entre los sistemas de neurotransmisión excitatorio e inhibitorio, actuando a nivel celular en tres mecanismos fundamentales:

1. La modulación de canales iónicos sensibles a voltaje ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^+$ ) responsables de la generación del potencial de acción y el control de la excitabilidad intrínseca.
2. La inhibición mediada por la neurotransmisión GABAérgica a través del receptor  $\text{GABA}_A$  ionotrópico que incrementa el flujo de  $\text{Cl}^-$  al interior de la célula, del receptor  $\text{GABA}_B$  y  $\text{GABA}_C$  que se acoplan a una proteína G permitiendo la entrada de  $\text{K}^+$  y de la inhibición de los transportadores GAT-1, GAT-2, GAT-3 y GAT betaína (BGT-1), evitando así el reciclaje de GABA.
3. La excitabilidad mediada por la neurotransmisión glutamatérgica, modulada por la unión de glutamato a sus receptores ionotrópicos AMPA, kainato y NMDA, los cuáles son permeables a iones de  $\text{Na}^+$ , y dependiendo del subtipo y composición de la subunidad a iones de  $\text{Ca}^{2+}$ . Los receptores NMDA, que están inactivos durante el período de potencial de reposo, son reclutados sólo en períodos de despolarización prolongada, a diferencia de los AMPA que no presentan esa condición, implicándose en la neurotransmisión excitatoria rápida (Kwan, Sills & Brodie 2001).

Conocidos estos blancos fundamentales de los FAE debido a la participación que tienen estos mecanismos en el desarrollo de la epilepsia, es lógico pensar que un esquema de monoterapia sea utilizado para tratar un tipo en específico de esta enfermedad. No obstante, a pesar de tener una idea razonable de cómo la mayoría de los FAE funciona, se conoce poco acerca de la patofisiología de las epilepsias y la respuesta al fármaco, así como la farmacorresistencia que presentan algunos pacientes, es por ello que se ha estructurado un marco racional de terapia combinatoria o politerapia, incrementando la eficacia de la misma al actuar en diferentes blancos como se observa en la figura 9.



**Figura 9. Representación esquemática de los principales blancos para los FAE de GABA y glutamato en terminales postsinápticas.**

Abreviaturas:  $\alpha_2\delta$  es la subunidad auxiliar de canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje, Gly es glicina, SSA es succinato semialdehído y SV2A es proteína de la vesícula sináptica. Tomado de Stefan & Feuerstein 2007.

Los bloqueadores de los canales de  $Na^+$ , como la fenitoína, carbamazepina y lamotrigina se unen en un estado de inactivación rápida causando un bloqueo dependiente después de la apertura del canal. En contraste, la lacosamida se une en la inactivación lenta de los canales de  $Na^+$ , fenómeno que predomina durante los períodos de despolarización prolongada extendiéndose a un período de latencia entre potenciales de acción. Sin embargo, ninguno de estos fármacos tiene un solo mecanismo de acción. Algunos bloqueadores de los canales de  $Na^+$  se unen a canales de  $Ca^{2+}$  presinápticos, y la lamotrigina incrementa la actividad hiperpolarizante al activar canales catiónicos sensibles a nucleótidos cíclicos.

Fármacos que incrementan la actividad inhibitoria mediada por GABA, clásicamente benzodiazepinas, barbitúricos y la tiagabina bloquean la recaptura



de este neurotransmisor incrementando sus niveles en la hendidura sináptica, haciéndolo disponible para su unión en los receptores postsinápticos. El vigabatrin actúa inhibiendo la transaminación de GABA bloqueando una enzima llamada GABA-t que degrada la vida útil del neurotransmisor. Otros fármacos actuales comerciales tienen como blanco principal el sistema de neurotransmisión excitatorio glutamatérgico, o en los canales de  $K^+$ , responsables de la hiperpolarización de la membrana. Las vías glutamatérgicas se han convertido en el blanco de un agente farmacológico en desarrollo llamado perampamel, un antagonista del receptor tipo AMPA. Otro agente llamado retigabina (ezogabina) incrementa la actividad de los canales de potasio  $Kv7.2/Kv7.3$  por su acoplamiento a la región del poro, creando así una corriente que aumenta su conductancia y regula el disparo neuronal con el período de hiperpolarización (Brodie, Covanis, Gil-Nagel, Lerche, Perucca, Sills & White, 2011).

Existen también otros FAE que tienen más de un mecanismo de acción como el valproato de  $Na^+$  (bloqueador de los canales de  $Na^+$  dependientes de voltaje; bloqueador de los canales tipo T de  $Ca^{2+}$  e inhibidor de la degradación GABAérgica incrementando la actividad GAD), la gabapentina (interacción con el sistema de transporte de L-aminoácidos que altera sus concentraciones extracelulares, aumentando la actividad de glutamato-deshidrogenasa y en consecuencia la concentración de GABA), el felbamato (interacción con el receptor NMDA, evitando su activación uniéndose al sitio de reconocimiento de glicina; agonista de GABA uniéndose al sitio de benzodiazepinas y disminuyendo las corrientes de  $Na^+$  dependientes de voltaje) y el topiramato (bloqueador del receptor AMPA/kainato, facilitando los efectos del receptor  $GABA_A$  además de retrasar la recuperación de canales iónicos de  $Na^+$  de su inactivación). Existen también FAE más recientes como el levetiracetam, que parece no interactuar con ninguno de los blancos terapéuticos tradicionales, observándose que actúa sobre la proteína SV2A que se encuentra en las vesículas sinápticas, modulando su actividad excitotóxica, específicamente en la liberación de neurotransmisores inhibitorios (Kwan, Sills & Brodie, 2001; Stefan & Feuerstein, 2007).

Cabe destacar que la identificación de una nueva generación de fármacos que sirvan a pacientes epilépticos con crisis no controladas quizá necesiten de un cambio de paradigma en el desarrollo de estrategias farmacológicas que no sólo sean responsivas al cuadro sintomático, sino que incluyan la estructuración de un diseño basado en los mecanismos patofisiológicos de la ictogénesis y epilepsias de etiología genética. Existe evidencia que sugiere que algunos de los FAE actúan con un efecto anticonvulsivo y no como antiepiléptico ya que sólo controlan los síntomas, no así el desarrollo inicial de la progresión paulatina en la epilepsia. No todos los FAE han sido clínicamente probados para describir sus efectos

antiepilépticos y los estudios con resultados a largo plazo en pacientes tratados con nuevos fármacos permanecen sin ser esclarecidos.

Partiendo de este argumento, se hace necesario el desarrollo de nuevos componentes con blancos específicos en el cerebro que actúen sobre la modulación directa de vías causativas implicadas en la organización de la función neuronal normal utilizando para ello modelos de sistemas que monitoreen uno o más atributos presentes en la farmacorresistencia humana (el tipo de síndrome y algunos polimorfismos) así como la integración de modelos de epileptogénesis (alteraciones moleculares y patrones de propagación) para su posterior modificación. Así el nuevo agente podría revertir el deterioro neurológico y neurofisiológico asociado a las crisis recurrentes y tener un efecto preventivo en individuos con riesgo de presentar epilepsia (Brodie et al., 2011; Schachter, 2002).

### **3.2. Tratamiento quirúrgico**










La prognosis relacionada al control de las crisis depende de la etiología de la epilepsia, es así que, a pesar del gran número de síndromes epilépticos, los avances en la electrofisiología y neuroimagen han facilitado la localización funcional de estructuras cerebrales para así identificar un foco epileptogénico. De esta manera, pacientes que desarrollan epilepsia farmacorresistente, tienen como alternativa terapéutica el ser candidatos a una cirugía resectiva. Este tratamiento quirúrgico incluye la remoción, destrucción o desconexión del tejido epiléptico y puede ser aplicado en varias estructuras cerebrales o nervios craneales que modulan las redes cerebrales generadoras de las crisis (Al-Otaibi et al., 2012; Moshé et al., 2015).

La gran mayoría de los pacientes que presentan crisis originadas en un área limitada del cerebro mejoran de forma importante cuando el tejido epileptogénico es removido. En la ELTM, un síndrome epiléptico que frecuentemente presenta resistencia a los fármacos, la cirugía resectiva ofrece una eficacia muy superior en términos del mejoramiento en el control de las crisis y de la calidad de vida, donde el procedimiento estándar de lobectomía anterior temporal ha reportado hasta un 70% de eficacia, disminuyendo la ocurrencia de los eventos epilépticos. También, mediante el análisis de bandas de frecuencia del EGG, específicamente en las HFO relacionadas con la aparición de crisis, se ha reportado que su tasa de ocurrencia disminuye considerablemente al remover el tejido que las genera. Inclusive se ha reportado la disminución de actividad ictal durante las crisis en registros intracraneales, como sucede en las oscilaciones con una frecuencia mayor a 1000 Hz en la epilepsia neocortical intratable. Estas oscilaciones aparecen intermitentemente en períodos interictales y se ven aminoradas

significativamente una vez que se ha removido por completo el tejido ictal. Sin embargo, para que la intervención tenga éxito, la elección de la técnica resectiva se vuelve fundamental. La decisión sobre el tipo de enfoque quirúrgico depende de varias consideraciones que incluyen principalmente: la localización y extensión de la zona epileptógena, evaluación de resultados obtenidos de imágenes por resonancia magnética y, registros electroencefalográficos, pruebas neuropsicológicas, la evaluación riesgo-beneficio de la cirugía por sí misma y de un monitoreo preoperatorio (Elger & Schmidt, 2008; Naotaka, 2016).

Entre los métodos electrográficos, recientemente se ha propuesto la utilización de potenciales evocados cortico-corticales que provee una nueva forma de explorar la actividad inter-área en humanos in vivo. Este método, en combinación con mapeos corticales convencionales podrían estructurar un mapa funcional entre redes cerebrales rastreando las conexiones cortico-corticales para así medir la excitabilidad del tejido y las áreas adyacentes mediante la estimulación del foco ictal. El registro de áreas corticales remotas al foco podría ser usado para definir el circuito que involucra el patrón de propagación durante una crisis (Wrench et al., 2011). La variedad de análisis preoperatorios resulta en una diversidad de técnicas y procedimientos quirúrgicos. En la figura 10 se ilustran algunas de las intervenciones quirúrgicas utilizadas para el control de crisis.

Los resultados de la cirugía dependen entonces de qué tan bien se puede identificar la zona epileptógena y si el procedimiento ha removido por completo ese tejido sin resecar otras zonas importantes reduciendo de esta forma los daños en su funcionalidad. No todos los procedimientos se pueden llevar a cabo y es ahí donde la variabilidad de técnicas y enfoques operatorios cobran su relevancia. Por ejemplo, si la resección completa de la estructura no es factible, una resección parcial del tejido quizá sea la mejor opción en algunos casos selectos a pesar de que los resultados no sean los más favorables, o inclusive llevar a cabo la interrupción de las vías de propagación para disminuir las crisis. Es por ello que establecer un correcto diagnóstico y personalizado identificará también las posibles consecuencias del procedimiento quirúrgico para así tratarlas adecuadamente. El impacto varía enormemente de un individuo a otro a pesar de las recomendaciones prescritas, por lo que una evaluación en la calidad de vida se hace necesaria (Noachtar & Borggraefe, 2009).

Cirugía de la epilepsia	
Procedimiento	Uso clínico
Amigdalohipocampectomía selectiva 	Esclerosis del cuerno de Ammon u otra patología del lóbulo temporal mesial
Resección adaptada de lóbulo temporal 	Lesiones del lóbulo temporal o epilepsia del lóbulo temporal criptogénica
Topectomía 	Lesiones extra-temporales
Hemisferectomía 	Lesiones hemisféricas o presencia de encefalitis
Topectomía transeccional 	Lesiones cercanas a áreas de asociación
Transección subpial 	Lesiones en áreas de asociación
Resección lobular aislada 	Lesiones extendidas (desarrollo post-encefalítico)
Resección lobular múltiple 	Lesiones extendidas (desarrollo post-encefalítico)
Callosotomía (parcial o total) 	Síndrome de Lennox-Gastaut

**Figura 10. Panorama general de los principales procedimientos para la cirugía resectiva y sus blancos clínicos.** Los asteriscos en la primera columna indican las intervenciones que raramente controlan por completo las crisis. Traducido de Elger & Schmidt, 2008.

Específicamente en la ELTM, los epileptólogos proponen una red neuronal implicada en facilitación de la actividad eléctrica durante las crisis. El sustrato de conceptualización del inicio de la crisis y sus vías de propagación es la teoría de

las redes neuronales cortico-subcorticales, fundamentándose en que éstas regiones están bilateralmente interconectadas funcional y anatómicamente, siendo cruciales en los procesos de propagación. Además, los componentes individuales de esta red pueden influenciarse uno al otro, impactando en la semiología clínica y en patrones de manifestación electrográfica. Este complejo incluye a estructuras de la red medial temporolímbica como el hipocampo, la AM, la neocorteza del lóbulo temporal lateral, la CxEn, el tálamo medial y la región inferior del lóbulo frontal.

En suma, la relevancia de la cirugía resectiva como tratamiento implica el conocimiento de una serie de procesos que requieren de cuidadosas consideraciones en su práctica moderna, los cuales incluyen: 1) la determinación de una candidatura a la cirugía basada en una evaluación prequirúrgica razonable; 2) la consideración del método operatorio más apropiado; 3) la preparación de un tratamiento postquirúrgico incluyendo la rehabilitación; 4) la evaluación comprehensiva de las ventajas de llevar a cabo la cirugía, y en algunos pacientes 5) la consideración de una re-cirugía. El tratamiento ablativo involucra un enfoque interdisciplinario para brindarle al paciente un manejo adecuado de su enfermedad (Wrench et al., 2011).

### **3.3 Neuromodulación eléctrica**

Como se ha revisado, la principal vía de tratamiento para la epilepsia es la medicación crónica basada en estrategias terapéuticas de modulación sobre el balance neuronal de excitación/inhibición.

Las respuestas a estos tratamientos pueden variar, presentándose un adecuado control de las crisis hasta una tolerancia a los efectos anticonvulsivos, disminuyendo la eficacia farmacológica. Para comprender la interacción entre los efectos terapéuticos, es necesario considerar a la epilepsia como una enfermedad que se adscribe a un desorden del balance entre sistemas de neurotransmisión excitatorio e inhibitorio. La comunicación interneuronal permite que la excitabilidad celular sea modulada adecuadamente en condiciones normales de funcionamiento cerebral. Tal organización en la electrofisiología neuronal permite una actividad acoplada de diferentes regiones del cerebro para sincronizarse con otras y así ejecutar funciones complejas. No obstante, esta sincronía puede extenderse a grandes secciones de tejido, desencadenando un reclutamiento de la actividad, produciendo un efecto de hipersincronización.

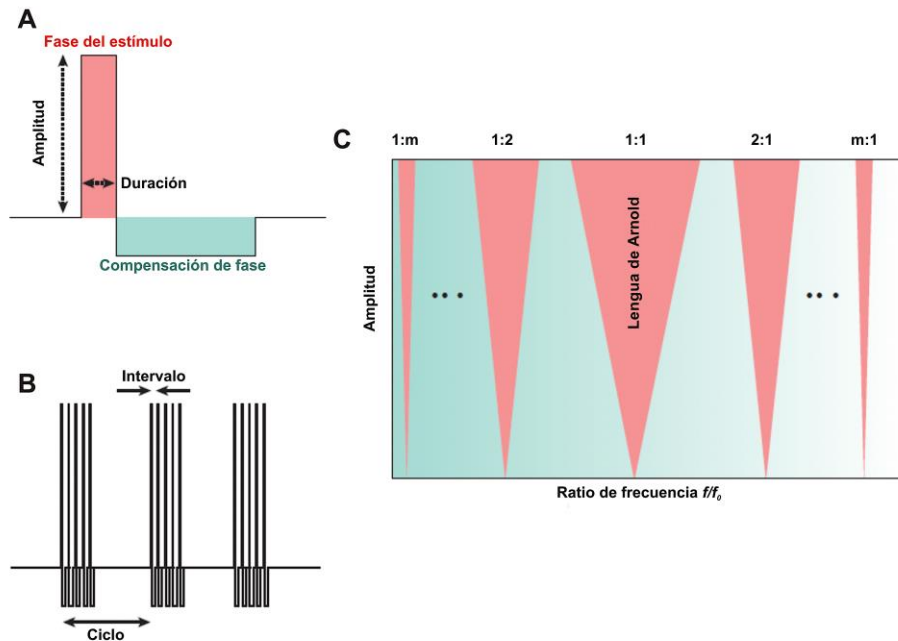
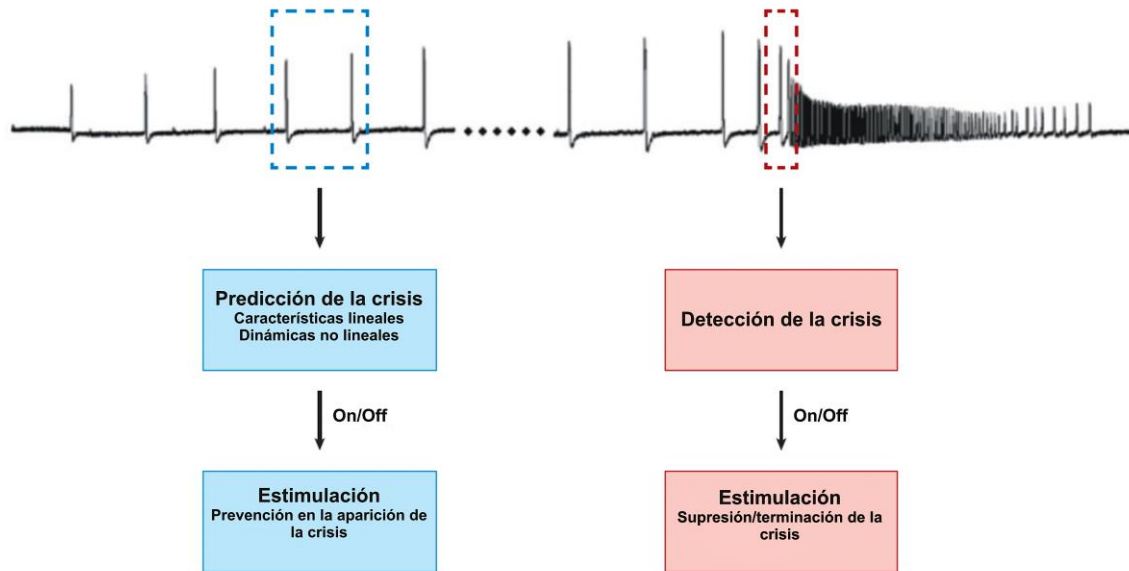
Estas alteraciones pueden ser registradas mediante EEG, que presenta grandes amplitudes de voltaje y una alta actividad de coherencia, fenómenos que son observados al manifestarse una crisis.

La neuroestimulación es una modalidad de tratamiento en la cual se generan pulsos eléctricos directamente en el tejido cerebral para modular su actividad electrofisiológica, y en el caso de la epilepsia, interferir en los períodos de hipersincronización que la caracteriza.

La estimulación eléctrica tiene la capacidad de ejercer sus efectos terapéuticos interfiriendo en pequeñas y grandes redes de actividad sincronizada involucradas con eventos epilépticos. La estimulación eléctrica tiene una ventaja al precisar la modulación en la electrofisiología neuronal de forma espacial y temporal. A pesar de que los tratamientos quirúrgicos tienen una alta eficacia en el control de las crisis, la remoción de estructuras del cerebro es irreversible y en algunos casos la cirugía no es una opción adecuada debido a que el tejido epiléptico no puede ser claramente identificado o su resección es muy complicada.

Por tanto, la aplicación de estimulación neuronal supone una alternativa importante para mitigar estos problemas, presentando potenciales ventajas sobre la cirugía resectiva: 1) es reversible, 2) es ajustable a un amplio rango de parámetros necesarios para cada paciente, 3) múltiples focos pueden ser influenciados por la estimulación y 4) los focos que no pueden ser removidos pueden ser estimulados (Al-Otaibi, Hamani & Lozano, 2011; Mogul & van Drongelen, 2014).

Prevenir que una crisis ocurra como resultado del análisis de una respuesta a la estimulación requiere de la predicción de la crisis, mientras que la terminación de la misma requiere de una detección menos complicada (figura 11). La señal empleada para la estimulación varía entre estudios, como señales de corriente directa, señales sinusoidales, diferentes trenes de pulsos y señales de corriente alterna con diferentes ciclos de funcionamiento. Estas consideraciones previenen serias reacciones electroquímicas y daños al tejido neural y/o al material del electrodo en su uso crónico.

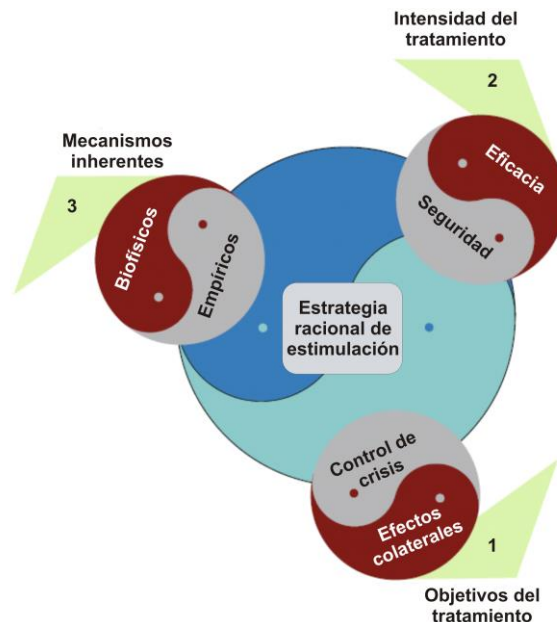


**Figura 11. Predicción y detección de crisis y principales parámetros de estimulación.**

1) El control de una crisis depende de cuando la actividad ictal pueda ser fiablemente determinada. El potencial local de campo en electrodos intracraneales juega un papel crucial en el curso temporal de la electrofisiología cerebral al ocurrir una crisis epiléptica pues la predicción sugiere la identificación de patrones epiléptiformes antes de que el evento inicie. Esto es posible si la estimulación puede alterar la progresión de la actividad patológica. Si la crisis ya ha comenzado, el rol de la estimulación cambia hacia la terminación o supresión. 2) En **A**), detalle de un pulso bifásico en el cual la carga del estímulo es compensada por el cambio en la fase, la amplitud de la compensación es típicamente menor que la fase de inicio, pero con una duración mayor. En **B**), ejemplo de secuencia de estimulación en el cual el tren de pulsos se compone de varios ciclos que incrementan su funcionalidad, la frecuencia en el tren del pulso es inversa al intervalo. En **C**), esquema que presenta la relación entre dos osciladores acoplados en un proceso de estimulación, la sincronización a la misma frecuencia (1:1) o en cualquier ratio de frecuencia arbitrario (1:m o m:1) depende de la amplitud y del ratio entre frecuencias del medidor ( $f$ ) y del valor medido ( $f_0$ ). El área correspondiente a la sincronía ocurre en un espacio de parámetros finitos de ciclicidad constante llamada lengua de Arnold (regiones rosadas) y la desincronización fuera de él (regiones verdes). Modificado de Mogul & Drongelen, 2014.

Los parámetros de estimulación son importantes pues de esta manera la carga eléctrica se puede limitar pasando a través del material en un tiempo igual a cero, así la entrada (input) input modula la red neuronal circundante del electrodo (figura 11). Los efectos de la desincronización requieren de cuándo el tejido presenta estados excitables y viceversa, la sincronización ejerce su efecto durante los períodos de inhibición. Por ello es interesante notar que dependiendo de la localización, los estímulos a baja frecuencia (~ 10 Hz) tienen efectos diferenciales comparados con los de alta frecuencia (50 – 100 Hz). Tales efectos terapéuticos se clasifican en escala microscópica (la excitabilidad intrínseca celular, en la conducción del potencial de acción y posterior neurotransmisión) y en homeostáticos a largo plazo (cambios plásticos y afectaciones en la configuración de la red neural) (Mogul & Drongelen, 2014).

Por otro lado, la habilidad para diseñar estrategias racionales de electroterapia en la epilepsia requiere del análisis de su etiología y fisiopatología, de comprender los mecanismos por los cuales la estimulación eléctrica interactúa con el sistema nervioso para modular su función a nivel celular, sináptico y de redes neuronales, además del espectro de potenciales riesgos asociados con la estimulación y sus limitaciones. Estos aspectos están íntimamente relacionados en múltiples niveles como se muestra en la figura 12 (Sunderam et al., 2010).



**Figura 12. Esquema racional de la electroterapia.**

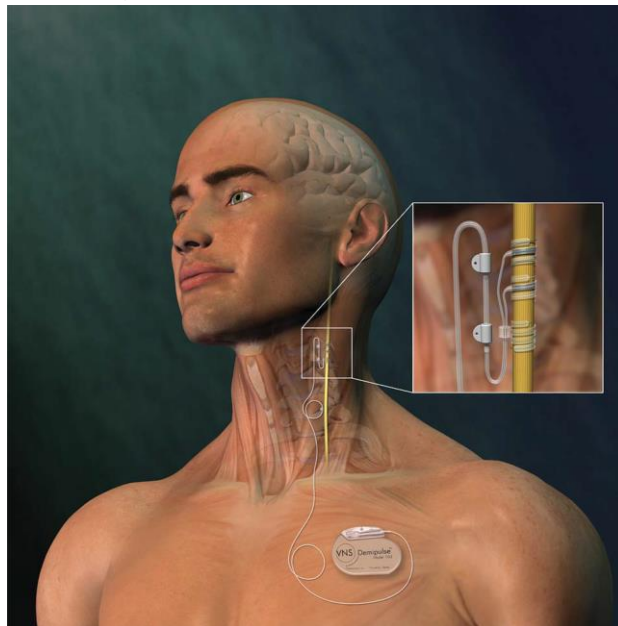
Diseño de factores relacionados con los objetivos del tratamiento: 1) en términos de metas, 2) en términos de sus parámetros y 3) en relación con los mecanismos propios de la estimulación. Cada uno de estos factores presenta variaciones dicotómicas en sus componentes, como si fuera una especie de yin-yang, donde el punto de balance entre ellos resulta en la formulación de una estrategia de estimulación eléctrica racional para el tratamiento de la epilepsia. Traducido de Sunderam, Gluckman, Reato & Bikson, 2010.



Una vez que la propuesta de estimulación ha demostrado tener una estrategia racional de neuromodulación, se puede implementar como una alternativa de tratamiento. Algunas de las estrategias de estimulación más importantes para el control de las crisis epilépticas son la estimulación eléctrica del nervio vago, la estimulación cerebral profunda, la estimulación magnética transcraneal, la estimulación transcraneal de corriente directa y más recientemente, la estimulación eléctrica transcraneal focal. En el siguiente apartado se describirán con más detalle algunas consideraciones importantes que las hacen opciones eficaces en el tratamiento de la epilepsia.

### 3.3.1. Estimulación eléctrica del nervio vago

La estimulación eléctrica del nervio vago (VNS por sus siglas en inglés, *Vagus Nerve Stimulation*) es un tipo de tratamiento de neuromodulación que está indicado para pacientes con epilepsia refractaria a los fármacos y que no son candidatos a una cirugía resectiva. El tratamiento crónico de VNS ha mostrado disminuir la frecuencia de las crisis epilépticas con un rango de respuesta en pacientes de hasta el 50%. Esta técnica de neuromodulación consiste en aplicar intermitentemente y de manera continua corriente eléctrica mediante dos electrodos conectados subcutáneamente a un generador de pulsos e implantados en el nervio vago izquierdo (figura 13).

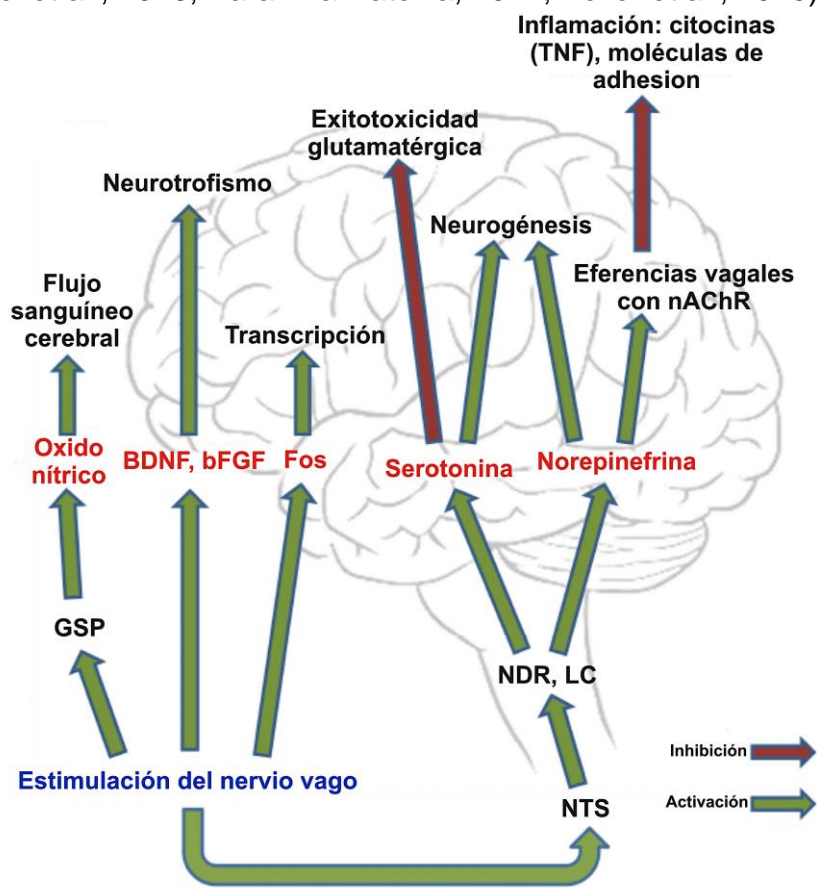


**Figura 13. Esquema que presenta la ubicación de electrodos en el nervio vago izquierdo.**

Al iniciar la actividad epiléptica el electrodo puede detectar esa diferencia de potencial, induciendo pulsos de corriente en fibras aferentes para modular la actividad cortical y así disminuir la intensidad de la crisis y su ocurrencia. Tomado de Al-Otaibi, Hamani & Lozano, 2011.

El mecanismo de acción no ha sido completamente esclarecido, pero parece que estimular las proyecciones de este nervio craneal hacia neuronas del núcleo del tracto solitario, locus coeruleus, del núcleo del rafe, del tálamo y la corteza que inducen cambios a corto plazo traducidos en un efecto de sincronización/desincronización en la actividad eléctrica cerebral, y a largo plazo en modificaciones en la concentración de neurotransmisores (reducción de aquellos que provocan excitación como el glutamato e incremento de los que provocan inhibición como GABA y glicina).

Se ha reportado también la disminución de efectos antiinflamatorios que favorecen la aparición de crisis persistentes, además de una modificación en la distribución del flujo sanguíneo cerebral (particularmente por un incremento en el flujo sanguíneo talámico) como se observa en la figura 14 (Bodin et al., 2016; Bartolomei et al., 2016; Parakh & Katewa, 2014; Zeiler et al., 2015).



**Figura 14. Cambios generados por la estimulación vagal en el tratamiento de la epilepsia refractaria.** Obsérvese el incremento de factores tróficos de crecimiento que no se ven afectados por la actividad de citocinas, responsables de favorecer la epileptogénesis, además la VNS interfiere con el proceso de excitotoxicidad glutamatergica, fenómeno característico de las crisis recurrentes. Estos cambios son causados indirectamente por neurotransmisores como la serotonina y norepinefrina debido a la activación del locus coeruleus y el núcleo del rafe. Traducido de Cai, 2014.

La VNS está dirigida a inducir potenciales de acción dentro de diferentes tipos de fibras que constituyen los nervios a nivel cervical mediante estimulación unidireccional, activando fibras vagales aferentes que regulan estructuras talámicas, uno de los principales blancos de la VNS, pues están involucradas en la regulación de la actividad del sistema límbico.

Además de incrementar actividad local de la neurotransmisión GABAérgica y de disminuir la del glutamato y aspartato, también tiene impacto en otros neurotransmisores como la serotonina y norepinefrina, que regulan el umbral de activación relacionado con el inicio de las crisis, el desarrollo de la epileptogénesis y que además se relacionan con la aparición de patologías comórbidas, como la depresión. El incremento de norepinefrina ha sido documentado con concentraciones significativas en la corteza prefrontal, hipocampo y en amígdala, interfiriendo con los procesos de señalización intracelular de citocinas y en moléculas de adhesión que facilitan el progreso de la epileptogénesis (Vonck & Boon, 2008).

La mayoría de los pacientes son estimulados a una frecuencia entre los 20 Hz y 30 Hz, con un ciclo de estimulación de 30 segundos *on* y 5 minutos *off*. Los ensayos clínicos han demostrado que alrededor de 20% y hasta el 40% los pacientes presentan un buen control de sus crisis reduciendo su aparición en el primer año de tratamiento. En estudios de conectividad funcional, después de varios meses de estimulación se ha reportado que la VNS disminuye los grados de interdependencia entre áreas como la AM, el hipocampo y la región parahipocampal, zonas pertenecientes al polo temporal, además de otras áreas como la corteza prefrontal y el tálamo durante los períodos *on* de la estimulación (Bartolomei et al., 2016; Krahl & Clark, 2012).

En modelos experimentales, la VNS ha mostrado tener diferentes efectos en el EEG y en la aparición de DIE. Una alta intensidad y alta frecuencia en los parámetros de estimulación produce desincronización en el EEG cortical, resultados distintos de utilizar menores intensidades con los mismos rangos que causan el efecto contrario, la sincronización. En humanos se han reportado efectos diferentes en las DIE durante la VNS aguda y crónica. Datos iniciales obtenidos de pacientes adultos con epilepsia refractaria no han revelado cambios significativos ni en la frecuencia o espectro de potencia. Otros autores han demostrado una reducción de las DIE y una disminución de actividad en el EEG en pacientes que presentaron crisis parciales y generalizadas, resultados que son confirmados en adultos y niños con varios tipos de epilepsia y crisis al mostrar correlaciones fuertes entre el porcentaje de reducción de las crisis y la reducción

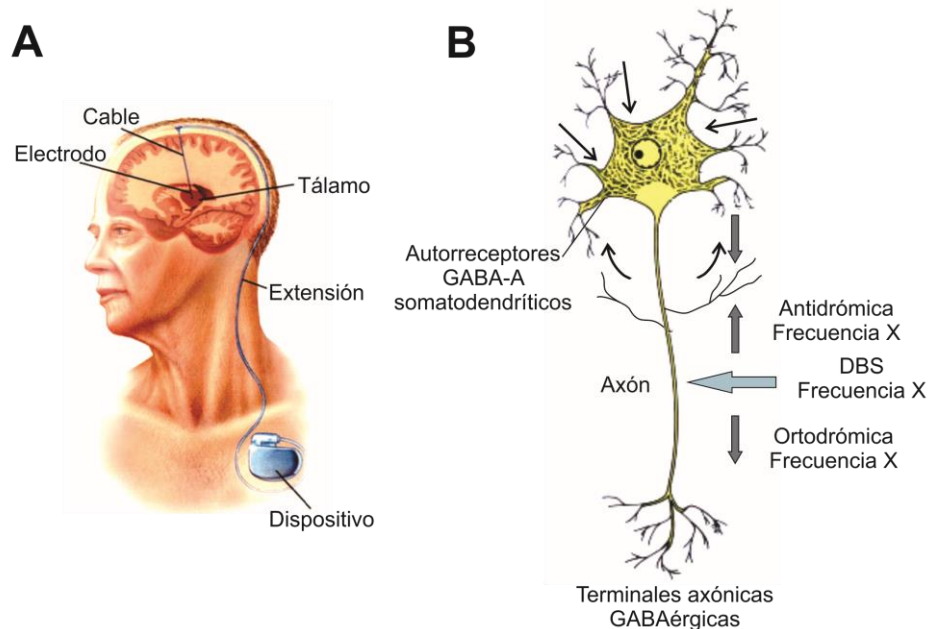
en las DIE. Así se han determinado rangos definidos clínicamente en los parámetros de estimulación que incluyen anchos de pulso de 130, 250, 500, 720 y 1000  $\mu$ s, intensidades de 0.25-4 mA, frecuencias de 1-145 Hz, duración de 7-270 s y retardos entre trenes de 0.2 s a 180 min, por ello que los físicos especializados deciden no variar mucho en los parámetros basándose en las configuraciones actuales con el fin de no provocar respuestas inadecuadas, sin embargo no hay una explicación clara de cómo las configuraciones mejoran la eficacia del tratamiento. Los esfuerzos por entender cómo la neurobiología traslacional elige estos parámetros y los relaciona con la sintomatología clínica es un área clave para el futuro desarrollo en la investigación de la VNS (; George et al., 2004; Kuba et al., 2010).

### 3.3.2. Estimulación cerebral profunda

La estimulación cerebral profunda (DBS por sus siglas en inglés, *Deep Brain Stimulation*) se ha convertido en una importante terapia para el tratamiento de diversas patologías, tales como el Parkinson, la distonia y como tratamiento para enfermedades psiquiátricas que son refractarias al tratamiento farmacológico, como lo es la ELTM (Miocinovic, Somayajula, Chitnis & Vitek, 2013; Miocinovic et al., 2009). Varios blancos terapéuticos han sido propuestos para la DBS, entre ellos se encuentran el cerebelo, el hipocampo, el núcleo caudado, los cuerpos mamilares, el hipotálamo posterior, el núcleo subtalámico, el núcleo posterior *ventralis oralis*, la zona caudal incerta y el globo pálido. Especialmente la estimulación del núcleo anterior del tálamo, es una propuesta terapéutica emergente para la epilepsia intratable y para los pacientes que no son candidatos a una cirugía resectiva.

La DBS se realiza a través del implante de electrodos intracerebrales para estimulación, los cuales están conectados subcutáneamente a un generador de pulsos que continuamente induce corriente eléctrica permitiendo la modulación precisa de áreas remotas del cerebro y blancos nucleares (figura 15A). El éxito en los efectos de la estimulación depende de la ubicación apropiada de los electrodos y la efectividad de los parámetros de estimulación programados. Estas variables, en suma, influyen en la distribución espacial de la energía eléctrica. Usando la fórmula  $\{(V^2 \times \text{ancho de pulso} \times \text{frecuencia}) / \text{impedancia}\} \times 1 \text{ s}$  en ensayos cortos es posible calcular el total de energía eléctrica requerida para ser inducida en el blanco en 1 s, de esta manera se modula la intensidad de la estimulación evitando el daño del tejido y la posibilidad de generar un incremento en la excitabilidad cortical que resulta en un foco convulsivo (Dong-Hong & Xiao-Feng, 2017; Halpern et al., 2008; Jaseja, 2013).

La estimulación conduce varios efectos en diferentes áreas del cerebro dependiendo de donde se realice. En estudios de imagen por resonancia magnética durante períodos de DBS se ha observado la activación de vías neuronales cortico y subcorticales, específicamente la estimulación del núcleo talámico *ventralis-caudalis* provoca la activación de la corteza somatosensorial primaria y la ínsula, mientras que estimular el área paraventricular de la materia gris activa el córtex cingulado y la pared medial del tercer ventrículo. El mecanismo de acción en la DBS ha sido descrito por sus efectos inhibitorios debido al incremento de  $K^+$  extracelular, bloqueando así la despolarización neuronal al inducir un estímulo de corriente directa, capaz de suprimir el cambio manteniendo hiperpolarizada la membrana. Existe un complejo patrón de activación dependiendo si es estimulada la región somática o axónica de la neurona y de si las conexiones son inhibitorias o excitatorias. Se cree que la DBS actúa en ambos períodos, donde el soma y el axón se encuentran eléctricamente desacoplados resultando en una inhibición somática que bloquea la transmisión aferente así como su posterior excitación axonal y activación eferente (figura 15B).



**Figura 15. Implante de DBS y activación de neurona GABAérgica.**

En **A)**: Representación del implante del electrodo para DBS en el núcleo talámico, el electrodo es conectado a un generador de pulsos localizado intraclavicularmente. En **B)**: Activación de una neurona GABAérgica del tálamo al aplicar DBS, ocasionando que el potencial de acción se propague en dos direcciones. La dirección ortodrómica de excitabilidad reestablece la actividad patológica cerrando el sistema a una frecuencia (x), asumiendo que modula la liberación de GABA hacia las terminales talámicas. La dirección antidrómica previene la activación neuronal proveniente de otras redes, teniendo como resultado una deaferenciación funcional reversible del núcleo estimulado, ya sea corriente-arriba o corriente-abajo. Además, también es activada la liberación de GABA en las terminales de axones colaterales recurrentes (ramificaciones del axón), actuando en autoreceptores  $GABA_A$  somatodendríticos, de esta forma se facilita la inhibición, regulando la despolarización por la entrada de  $Cl^-$ . Figura izquierda Traducida de Lyons, 2011. Figura derecha modificada de Udupa & Chen, 2015.

En estudios sobre excitabilidad celular se han encontrado cambios en la rheobase y cronaxia celular. La rheobase es el coeficiente que describe la corriente mínima aplicada a la membrana celular durante un intervalo infinito de tiempo para que se active una despolarización, mientras que la cronaxia describe el intervalo de tiempo mínimo necesario que debe aplicarse a una corriente eléctrica para conseguir la misma respuesta despolarizante con una intensidad doble de rheobase. Estos valores son distintos en la neurona, encontrándose que en axones mielinizados la cronaxia está en el rango de los 30-200  $\mu$ s mientras que en el soma es más lento, en un rango de 1-10 ms.

Utilizando parámetros clínicos de DBS, con una frecuencia  $> 100$ Hz, un ancho de pulso de 60  $\mu$ s a una intensidad de 2-3.5 V se activan únicamente los axones de forma continua, sugiriendo que los efectos de la estimulación dependen de los cambios electrofisiológicos en las propiedades de membrana que modulan la neurotransmisión así como los parámetros utilizados, pues de ellos dependen efectos tan finos como la activación de umbrales diferenciales dependientes del sitio de acción en el cuerpo neuronal. No obstante, la activación involucra patrones de respuesta multifásicos como consecuencia de actividad mono y polisináptica proveniente de otras regiones cerebrales. Otros efectos que regulan el período de hiperpolarización es la presencia de PPI mediados por el receptor GABA<sub>B</sub> y períodos de post-hiperpolarización lenta, bloqueando parcialmente una despolarización (Klinger & Mittal, 2016; Udupa & Chen, 2015).

Por otro lado, datos recientes sugieren que la DBS produce una reducción en la amplitud de fase entre redes cerebrales en sincronización. La amplitud en la fase de acoplamiento entre ritmos de baja frecuencia y la amplitud en la actividad del ancho de banda permite la comunicación entre regiones del cerebro, proceso que se ve reducido durante la estimulación, específicamente en el ritmo beta (13-30 Hz) y a lo largo de la amplitud del ancho de banda (50-200 Hz), sugiriendo que la corrección en la amplitud del acoplamiento de fase se relaciona con mecanismos epilépticos entre redes neuronales (Klinger & Mittal, 2016). Aplicando la estimulación de forma aguda existe también una supresión del acoplamiento de fase en bandas de oscilación rápida gama con frecuencias de 35-100 Hz en pacientes con epilepsia.

Los efectos de la DBS en la ELT refractaria a los tratamientos pueden variar dependiendo del estado de la enfermedad. Al aplicar estimulación en el hipocampo se ha reportado una disminución en la frecuencia de las crisis de hasta el 95 %, no obstante, este porcentaje decae al 70% y hasta el 50% cuando la condición indica presencia de esclerosis hipocampal, pues hay una red incompleta

neuronal debido a la pérdida de neuronas en el tejido esclerótico, haciendo menos sensible la estimulación. La impedancia del tejido esclerótico se hace más alta, volviéndose resistente al flujo de la corriente a pesar de recibir el mismo voltaje, además de que existe un desplazamiento del electrodo del sitio blanco.

En pacientes sin esclerosis y con una buena tolerancia a la neuroestimulación se han visto mejoras notables al incrementar el voltaje, con estrategias establecidas clínicamente se inicia a 1.0 V, aumentando en pasos de 0.1 V hasta un máximo de 2.5 V. Estos parámetros redujeron la frecuencia de crisis con índices mayores al 90%. La DBS podría actuar sobre la vía perforante, permitiendo la actividad polisináptica de inhibición en regiones hipocampales de CA1-CA4, implicadas en las iniciación y propagación de crisis, además de modular la actividad del subículo que también toma parte de la generación y propagación en la ELTM (Jin et al., 2016).

Considerando los efectos de la DBS en las redes neuronales, los estudios futuros deberían enfocarse en el uso de nuevos dispositivos con circuitos cerrados de estimulación que puedan previamente definir el comienzo de una crisis mediante la detección de patrones electrofisiológicos específicos que indiquen actividad epileptiforme, y de esta forma el circuito cerrado adapte los parámetros de estimulación basándose en el estado clínico del paciente logrando un mejor control de los síntomas. El objetivo más reciente que se ha propuesto es la interferencia con el proceso de acumulación de actividad epiléptica tan pronto como sea posible para así abortar o prevenir la probable aparición del evento ictal. Otro importante desarrollo es la DBS con electrodos direccionados, los cuales se pueden orientar a través de la estructura de interés permitiendo así que el tejido se adapte mejor a los cambios de corriente estimulando estructuras adyacentes.

En síntesis, la evolución en la implementación de la DBS debe ser dirigida hacia 1) el entendimiento de los mecanismos por los cuáles esta terapéutica ejerce sus efectos, 2) el desarrollo de nuevas metodologías y 3) la miniaturización del sistema de estimulación para hacer el procedimiento menos invasivo (Dong-Hong & Xiao-Feng, 2017; Sugiyama et al., 2015).

### **3.3.3. Estimulación transcraneal**

La estimulación cerebral por medios electromagnéticos es recurrente en distintos campos de la literatura, desde las publicaciones en neurociencia y psiquiatría hasta las distopías clásicas y modernas de la ciencia ficción con la descripción de sistemas recreativos cerebrales como en la novela ¿Sueñan los androides con

ovejas eléctricas? de Philip K. Dick. La realidad de la estimulación cerebral inicia mucho más natural y menos controversial, introduciéndose en al área de investigación biomédica (Heinrichs, 2012). El campo de la estimulación cerebral no invasiva para el tratamiento de patologías se ha desarrollado significativamente en las últimas dos décadas. La utilización de herramientas neurofisiológicas, neuroimagen y de modelos de simulación computacional han contribuido al incremento del interés en esta área. Como consecuencia de esto, las técnicas que han sido desarrolladas y empleadas en el pasado son actualmente re-exploradas con diferentes y optimizados parámetros de estimulación, así como diferencias en el montaje del electrodo (Datta et al., 2013). Estos nuevos métodos incluyen la estimulación magnética transcraneal (TMS por sus siglas en inglés, *Transcranial Magnetical Stimulation*), la estimulación eléctrica transcraneal de corriente directa (TDCS por sus siglas en inglés, *Transcranial Direct Current Stimulation*) y EETF vía ETAC, que se caracterizan por tener sistemas de neuromodulación localizados en el exterior del tejido cerebral, específicamente sobre la superficie craneana. La inducción de un estímulo eléctrico o magnético de estas terapéuticas genera campos eléctricos que provocan modificaciones en la respuesta neuronal, como cambios de plasticidad, fisiología y metabolismo.

Los patrones eléctricos del campo generado por la estimulación dependen de la distribución espacial de los mismos, de esta manera la elección en la disposición del electrodo se deriva de un modelo biofísico y de ensayos fisiológicos que validan la seguridad de su uso (Minjoli et al., 2017).

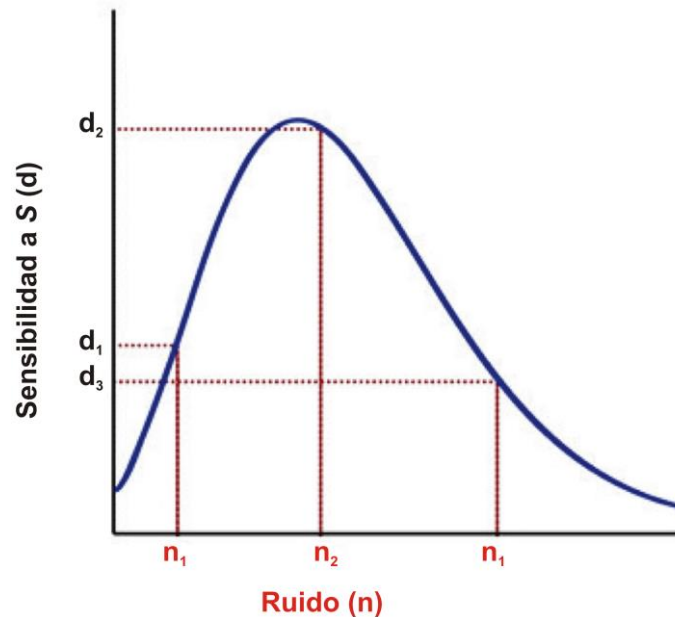
La efectividad en los efectos de este tipo de estimulaciones dependen de varios factores que incluyen los parámetros de estimulación (frecuencia, características temporales, intensidad, la configuración geométrica de la bobina o electrodo, la dirección de la corriente etc.), del momento en el que se induce la estimulación ya sea de forma preventiva (*off-line*) o responsiva (*on-line*) y de variables anatómicas (propiedades del tejido cerebral, grosor del cráneo, su localización, estado fisiológico y cognitivo).

Debido a que el input de corriente generado por el estímulo se propaga mediante el campo eléctrico, la eficacia también depende de cómo sea modulada la señal en función del ruido que genera. La estimulación transcraneal permite que el estímulo sea modulado mediante la actividad definida como “ruido”, éste no sólo es una activación aleatoria, a pesar de su dependencia a las interacciones entre parámetros y características de la estimulación. El ruido inducido obedece a la naturaleza de la población neuronal que es sometida al campo eléctrico.



La relación señal-ruido puede ser comprendida dentro de un simple y preciso marco de referencia basado en una función sigmoidea de entrada-respuesta. En sistemas biológicos, la fuerza de la respuesta a un estímulo dado se comporta raramente como una función lineal, comportamiento que es mucho más evidente en neuroestimulación, donde el rango de disparo neuronal varía en niveles dependiendo de la intensidad del estímulo (figura 16). Suponiendo que la fuerza del estímulo es fijada con variaciones sólo en la intensidad del ruido, cambiará entonces la fuerza de entrada. Las neuronas muestran un cambio en su respuesta como consecuencia al nuevo valor del estímulo, sin embargo, como ese incremento pasa a ser un umbral, la fuerza de respuesta incrementa, así la curva entrada-respuesta muestra su punto máximo de inflexión, incrementando también la fuerza de la entrada y saturando la respuesta neuronal para así entrar en una fase de decaimiento (Miniussi, Harris & Ruzzoli, 2013).

De esta manera es que es posible determinar parámetros de estimulación con alta eficacia, regulando la respuesta neuronal y maximizando las fases de sensibilidad al estímulo, que resultaría en una mayor eficacia en el flujo del campo eléctrico.



**Figura 16. Función sigmoidea de entrada-respuesta.**

Una señal fijada  $s$  varía según los niveles de ruido  $n$  que genera. La respuesta diferencial  $d$  para  $s$  varía en función del tamaño de  $n$ : cuando  $n$  es pequeña ( $n_1$ ) o cuando es alta ( $n_3$ )  $d$  es más pequeña que cuando  $n$  está en un nivel intermedio ( $n_2$ ). Es decir que se describe como  $d$ , la sensibilidad a la respuesta  $s$ , cambia a través de los valores de  $n$ . La discriminación de sensibilidad es baja a una nueva entrada, se incrementa a un rango intermedio y decrementa de nuevo debido a la saturación. Modificado de Miniussi, Harris & Ruzzoli, 2013.

A pesar de los avances en las tecnologías no invasivas de neuroestimulación, aún es necesario que sus mecanismos de acción sean bien definidos, requisitos necesarios para promover sus propuestas a la comunidad de investigación

científica y de medicina aplicada. La TMS y la TDCS son técnicas de estimulación transcraneal no invasiva que se han implementado debido a su éxito en el control de las crisis epilépticas modulando la excitabilidad cortical y subcortical. Recientemente se ha desarrollado la EETF vía ETAC, un tipo de neuroestimulación que presenta algunas ventajas sobre otras técnicas y que esta investigación se enfoca en estudiar sus efectos en un modelo experimental. Enseguida se describirán estas terapéuticas, enfatizando en el mecanismo de acción, algunos resultados en modelos experimentales y su uso en la clínica.

### **3.3.3.1. Estimulación magnética transcraneal**

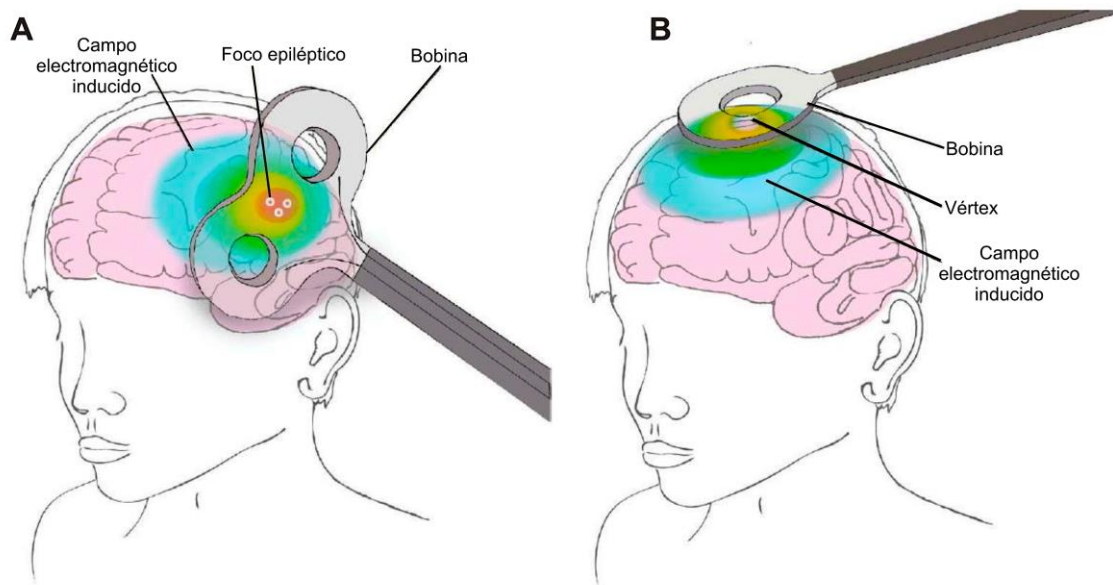
En 1831, Faraday demostró la inducción electromagnética mediante la generación de la fuerza electromotriz en un cuerpo sometido a un campo magnético variable, sea respecto a un campo estático o a las diferencias de las líneas del campo eléctrico, tal que cuando el cuerpo sometido es un conductor se produce corriente eléctrica. En 1985 este principio fue aplicado exitosamente en la estimulación de la corteza cerebral en humanos. Esta metodología es aplicada en la TMS, donde la corriente eléctrica es inducida a través del cráneo mediante una bobina creándose un poderoso cambio de corriente que genera un campo magnético, atravesando libremente los tejidos cerebrales.

El equipo utilizado en la TMS consiste en un estimulador que genera pulsos breves con una fuerte intensidad de corriente eléctrica cuya frecuencia varía, además de una bobina magnética de estimulación conectada a un generador que tiene una forma típica redonda parecida al signo  $\infty$ , de esta forma el campo es más fuerte y focalizado como se observa en la figura 17.

La fuerza máxima del campo eléctrico inducida por los estimuladores comerciales está en el rango de 2 tesla, el cual activa un volumen cilíndrico (~1 cm de radio por ~2 cm de altura) con una fase de decaimiento exponencial del eje central de estimulación capaz de activar neuronas corticales a una profundidad de 1.5 a 2 cm. El estímulo magnético, con una duración de onda de 100 ms, ejerce efectos sincrónicos excitatorios en la población neuronal, provocando cambios rápidos en los rangos de disparo de redes neuronales durante unos pocos milisegundos. Este proceso generalmente dura entre 20 y 200 ms, dependiendo de la intensidad del estímulo.

Para conocer el estado actual del sistema estimulado por la TMS se hace necesario el análisis de las señales emitidas por el tejido durante el tratamiento en un área determinada donde la actividad converge, facilitando su estudio mediante

la distribución temporal de los potenciales de acción. La TMS induce actividad de ruido que interfiere con su funcionalidad debido al incremento en el número de neuronas que disparan temporalmente asincrónicas, generando respuestas no lineales diferentes del estímulo, la relación entre la actividad aleatoria neuronal y el efecto del campo sobre ésta son clave en la variación de los patrones de descarga y de posibles modificaciones en los parámetros de estimulación (Miniussi, Harris & Ruzzoli, 2013).



**Figura 17. Representación de los blancos de TMS en la epilepsia.**

Se incluye una red neuronal completa, como por ejemplo el lóbulo temporal o el área del vértex en epilepsias corticales. La mayoría de los focos corticales que se encuentran más superficiales son blancos preferentes de bobinas con figura de ocho **(A)**. Redes estructurales sin un foco son blanco de bobinas más convencionales **(B)**. Nuevas estrategias están siendo desarrolladas para blancos subcorticales con bobinas en forma de H en áreas funcionalmente conectadas al foco epileptico. Tomado de Carrete et al., 2016.

Celularmente se han encontrado diversos efectos debido a la inducción de pulsos magnéticos con efectos diferenciales en sus mecanismos. Debido a que los axones neuronales tienen una mayor densidad de canales iónicos, son los que preferencialmente se activan durante la TMS. Cuando el axón se vuelve eléctricamente activo el potencial de acción viaja a lo largo del eje hasta alcanzar la segmento presináptico terminal para liberar el neurotransmisor, el estímulo activa una mezcla de neuronas excitatorias e inhibitorias y otros neuromoduladores tales como la acetilcolina, dopamina, norepinefrina y serotonina, específicamente, en el caso de la inhibición, se desarrollan patrones de modulación cerrados de tipo *feedback* y *feedforward*, característicos de la actividad de interneuronas.

Existen también otros parámetros independientes de la geometría del campo que participan en los efectos de la TMS, siendo la frecuencia uno de los más

importantes. Cuando el estímulo se aplica de forma repetitiva se puede clasificar en dos tipos, de “alta frecuencia” ( $>1$  Hz) o de “baja frecuencia” ( $< 1$  Hz). A pesar de que la respuesta puede variar entre individuos, básicamente la estimulación a alta frecuencia facilita la excitabilidad cortical mientras que a baja frecuencia suprime la excitabilidad.

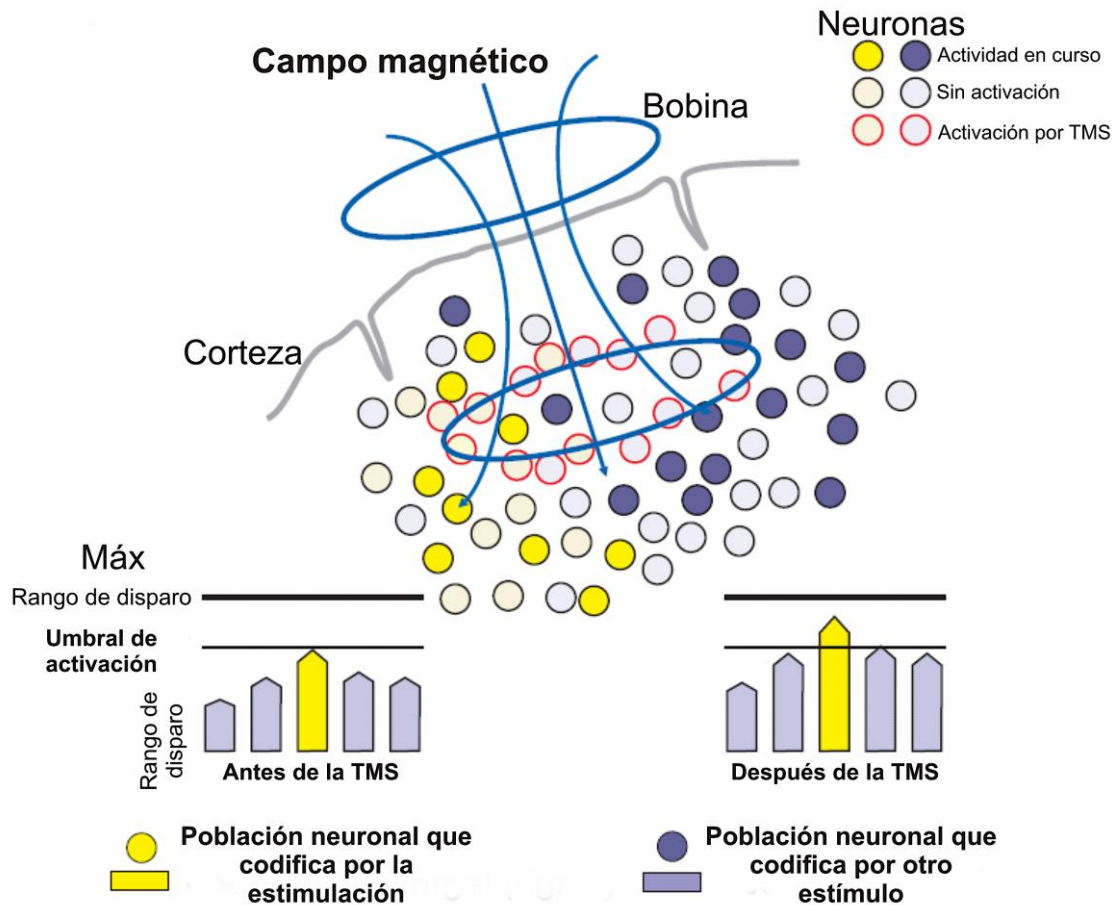
En la epilepsia el efecto inhibitorio de la estimulación a baja frecuencia resulta en una reducción de la frecuencia sobre las crisis durante el período *off-line*. Al aplicar el tratamiento durante 5 días consecutivos a una frecuencia de 0.3 Hz en pacientes con epilepsia focal farmacorresistente hubo una clara reducción del número de crisis epilépticas por semana, efecto que perduró hasta cuatro semanas después de la intervención. En pacientes que presentan epilepsia parcial continua y epilepsia primaria generalizada existe una reducción significativa de las DIE. En el caso de la ELT los resultados son muy parecidos, con reducciones de 39% en la aparición de ataques convulsivos que se logran mantener cuatro semanas después del tratamiento. En epilepsias extratemporales utilizando frecuencias de 0.9 Hz por 15 minutos diarios durante cinco días se observan reducciones de 19.1% y 35.7% para crisis complejas parciales y simples, manteniéndose hasta una semana después de aplicar TMS (Huerta & Volpe, 2009; Machado et al, 2013; Manganotti & Del Felice, 2013; Nitsche & Paulus, 2009; Noohi & Amirjalali, 2016). Estos efectos se han observado durante los períodos posteriores a estimulación intermitente de baja frecuencia en registros celulares. La estimulación a 1 Hz sobre la porción lateral de la AM está asociada con el incremento de latencia a descargas epileptiformes ictales e interictales al aplicar un bloqueador de los canales de  $K^+$  sobre neuronas del CxPer, una estructura clave en la generación de eventos oscilatorios sincronizados que se han visto alterados en pacientes con ELTM (Kano et al., 2015).

Al modificar los parámetros de estimulación por alta frecuencia, los cambios inducidos son a largo plazo y se relacionan con la plasticidad sináptica del hipocampo y la corteza cerebral. Los cambios excitatorios persisten por horas e incluso días. Inicialmente, al unirse el glutamato al receptor AMPA se permite la entrada de  $Na^+$  al interior de la espina dendrítica resultando una despolarización, que tras un incremento en la frecuencia remueve el magnesio ( $Mg^{2+}$ ) que bloquea a NMDA, generando despolarizaciones de mayor duración. La permeabilidad a iones de  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$  se incrementa, siendo la concentración de éste último mucho mayor, iniciando con la señalización de las proteínas quinasa, específicamente la calcio-calmodulina quinasa II que fosforila promotores de la expresión génica y de una regulación en ascenso (*up-regulation*) de proteínas conformadoras de AMPA. Estos procesos pueden activar tanto interneuronas como células piramidales, activándose la neurotransmisión GABAérgica y posteriormente inhibiendo

neuronas excitadas en un circuito *feed-forward*. Los circuitos interneuronales de este tipo permite responder a las interneuronas de una forma más rápida al modular la excesiva despolarización. Al inducir una ráfaga de pulsos se desencadena un proceso de liberación GABAérgica que se bloquea exactamente a los 200 ms, donde inicia el segundo estímulo. Si éste es un pulso simple habrá una ligera activación de NMDA que resulta en el proceso de depresión a largo plazo (LTD), si es una nueva ráfaga de pulsos la actividad de NMDA se incrementa para presentar LTP. A pesar de que las redes corticales son mucho más complejas que las del hipocampo, los efectos de plasticidad ocurren de formas similares. Experimentalmente se han visto efectos antiepileptógenos al aplicar pulsos repetitivos de TMS (240 pulsos, 1 Hz) durante cinco minutos después de inducir *kindling* amigdalino que provocan cambios en las propiedades de membrana descritos por un incremento en la corriente de rheobase y una disminución en la frecuencia de potenciales de acción lo que eventualmente reduce la funcionalidad de los canales de Na<sup>+</sup> sensibles a voltaje, necesarios para la despolarización (Chameh et al., 2015; Huerta & Volpe, 2009).

Las modificaciones a nivel celular repercuten en la actividad oscilatoria de grupos de neuronas. La inducción de TMS a través de pulsos pareados altera la dinámica cortical de inhibición debido a los cambios en la excitabilidad, involucrada en el desarrollo y la susceptibilidad a presentar una crisis. Al analizar señales de electrodos intracraneales se han encontrado cambios a largo plazo en actividad peri-ictal cortical que puede durar minutos u horas, dependiendo de la intensidad de la estimulación. La inhibición intracortical se ve disminuida y la facilitación se ve incrementada 24 horas previas a un evento ictal, condiciones que se invierten durante las 24 horas posteriores a la crisis. Estos resultados son similares durante los estados de línea base interictal con efectos hasta las 72 horas posteriores a la crisis. El incremento pre-ictal en la excitabilidad y su reducción post-ictal ocurre en pacientes con epilepsia focal que presentan crisis parciales secundariamente generalizadas. El hemisferio contralateral en estas condiciones muestra actividad diferencial durante las crisis parciales sin generalización al inducir pulsos repetidos magnéticos que disminuyen la excitabilidad debido a la ocurrencia simultánea de facilitación intracortical de la actividad e incremento de la inhibición intracortical de intervalos cortos que poco a poco modulan los períodos de sincronización, siendo este un posible mecanismo de protección y de terminación de una crisis epiléptica. En pacientes que padecen ELTM se ha observado una disminución de la facilitación intracortical de excitabilidad y de inhibición intracortical, efectos que persisten hasta por 48 horas después de la estimulación (Badawy, Strigaro & Cantello, 2014). Por lo tanto, la probabilidad de que una neurona sea activada por la inducción de un pulso magnético depende de su estado neurofisiológico y de las

características espaciales y anatómicas en las que se encuentre en relación del campo eléctrico, como se observa en la figura 18.



**Figura 18. Difusión del campo magnético por TMS.**

Se presenta una situación donde el ruido neuronal aleatorio inducido por TMS interactúa con el estado del sistema estimulado. Los círculos representan un estado hipotético de las neuronas (amarillo poblaciones celulares positivas a la señal del estímulo y gris poblaciones no responsivas). El patrón de respuesta final dependerá de la relación entre células activadas y no activadas por la localización del campo magnético, el cual puede provocar cambios en el umbral de activación neuronal después de la estimulación. El comportamiento de esas respuestas resultará en la posterior optimización del sistema mejorando su eficacia. Modificado de Miniussi, Harris & Ruzzoli, 2013.

Estos hallazgos instan a que se utilicen otras técnicas de análisis concomitantes a la TMS. Recientemente se ha propuesto la investigación de la excitabilidad cortical en relación con eventos paroxismales y episodios de pérdida de conciencia en pacientes epilépticos. La posibilidad de controlar la inducción de un pulso magnético antes o durante la aparición de descargas sintomáticas y asintomáticas mediante el análisis TMS/EEG sería una excelente herramienta para comprender los niveles de integración y de conectividad cerebral en la circuitería epiléptica (Manganotti & Del Felice, 2013).

En síntesis, la TMS actúa modulando la excitabilidad de las neuronas, modificando sus propiedades de membrana haciéndolas menos susceptibles a la

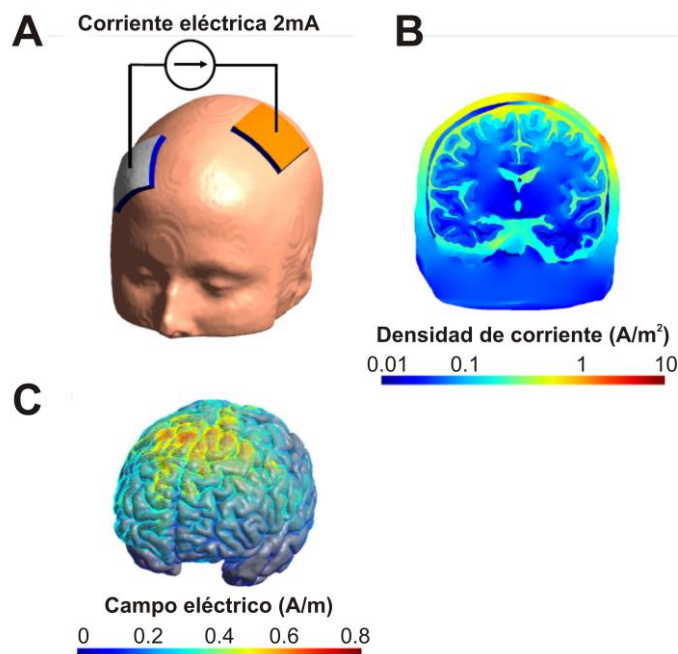
despolarización, no obstante estos efectos son dependientes de los parámetros de frecuencia con los que se induce un pulso magnético y de la optimización del sistema estimulador disminuyendo el ruido que produce, por lo que se ha sugerido que los físicos expandan su conocimiento sobre las leyes fisiológicas que rigen la actividad cerebral y su relación con los mecanismos de acción de la TMS, información técnica de los aparatos empleados y de protocolos de seguridad para el paciente, lo que hace necesario el desarrollo de guías rigurosas que permitan generalizar racionalmente los efectos de la estimulación en muestra específicas de la población epiléptica farmacorresistente. La cuestión fundamental que expresan los investigadores sobre la TMS se basa en la capacidad de esta terapéutica para que sus efectos persistan a largo plazo, además de si éstos podrían modular condiciones menos exploradas de la epilepsia, como lo es el estatus epiléptico refractario, a través de la heterogeneización de parámetros empleados en otras patologías (Noohi & Amirsalari, 2016; Zeiler, Matuszczak, Teitelbaum, Gillman & Kazina, 2015).

### **3.3.3.2. Estimulación eléctrica transcraneal de corriente directa**

La TDCS es un método de neuromodulación no invasivo que regula la excitabilidad cortical y que se ha utilizado en el tratamiento de varias patologías, incluida la epilepsia. El reciente incremento en la comprensión de los cambios neuronales debido a la estimulación, la TMS en específico, sobre diversas patologías, ha facilitado también el entendimiento de los mecanismos por los cuales la TDCS ejerce sus efectos terapéuticos, apoyándose en el desarrollo de sus potenciales aplicaciones clínicas.

Los protocolos contemporáneos empleados en este tipo de estimulación generalmente se conforman de la aplicación de dos electrodos superficiales, uno de ellos con un polo positivo (ánodo) y el otro con un polo negativo (cátodo). Intensidades de corriente directa de 1 mA a 2 mA son inducidas durante 20 minutos sobre un área aproximada de 35 cm<sup>2</sup> (5 cm x 7 cm) delimitada por los electrodos. La corriente fluye del ánodo al cátodo, parte de ella propagándose a través del cráneo y otra parte a través del tejido cerebral, generando picos de incremento y decremento en la excitabilidad cortical dependientes de la dirección e intensidad de la corriente (figura 19). La TDCS anódica tiene un efecto sobre la corteza local cerebral debido a la despolarización neuronal, mientras que de modo catódico provoca procesos de hiperpolarización. El incremento en el tamaño de la referencia del electrodo y la reducción en la estimulación permite efectos terapéuticos más focalizados.

Varios modelos matemáticos han sido desarrollados para describir el patrón del flujo de corriente inducido por TDCS en el tejido cortical. Estos modelos estiman una ruta basada en la conductividad eléctrica existente entre los electrodos mediante la simplificación de modelos esféricos que permiten calcular el flujo y la distribución de corriente para así escanear y segmentar diferentes tipos de tejido (piel, cráneo, fluido cerebro espinal, materia gris y materia blanca). Después de la segmentación, los valores de conductividad son separados y ponderados para generar un mapa que estima distribuciones de corriente en cada tipo de tejido. Como regla, la corriente más fuerte es inducida en localidades corticales que se encuentran más cerca de los electrodos, por tanto, la densidad de corriente disminuye conforme incrementa la distancia del campo eléctrico, no obstante, algunos efectos de la estimulación pueden ser extendidos a través del cerebro. El flujo de corriente preciso puede ser modulado debido a diferencias individuales tales como tamaño y forma de la cabeza, grosor del cráneo y tamaño de los ventriculos, variaciones que pueden ser exageradas a consecuencia de anomalías en el cerebro que alteran la conductividad como lo son las lesiones cerebrales (Filmer, Dux & Mattingley, 2014).



**Figura 19. Modelo que presenta el campo eléctrico generado por la inducción de corriente durante TDCS.**

**A)** Electrodo (rectángulo blanco y naranja) son fijados al cráneo para inducir corriente eléctrica a 2 mA. El modelo se deriva de un escaneo de MRI estructural. **B)** Simulación que muestra la función de densidad de corriente (ampers/unidad de área) en una sección coronal del cerebro durante TDCS: la imagen muestra el cuero cabelludo (capa más externa del corte), cráneo, fluido cerebroespinal, materia gris y materia blanca. Los valores más altos de densidad de corriente en el cerebro (colores fríos) son 100 veces menores que los de capas superficiales (colores cálidos). La alta resistencia del cráneo significa que la mayoría de la corriente está desviada hacia el cuero cabelludo. El fluido cerebroespinal es altamente conductivo, propagando corriente a lo largo del tejido. **C)** Simulación que muestra el campo eléctrico en la superficie cerebral. Esta configuración en el campo eléctrico incrementa su potencia (Volts/unidad de profundidad) en el espacio inter-electrodo (colores cálidos). Traducido de Peterchev, 2017.



Los cambios eléctricos generados derivan en modificaciones a nivel celular con efectos en el soma, axones, dendritas, interneuronas, células gliales y endoteliales. La excitabilidad neuronal se puede evaluar entonces dentro de regiones subcelulares en procesos simultáneos de despolarización e hiperpolarización. Estudios farmacológicos han descrito algunos de los mecanismos de acción de la TDCS, analizando los cambios generados por trenes de corta duración y cambios más persistentes por trenes de larga duración. Los bloqueadores de canales de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  eliminan los efectos de la estimulación anodal, mientras que los bloqueadores de NMDA interfieren con sus efectos a largo plazo independientemente de la dirección de la corriente. Los efectos posteriores a la estimulación producen cambios en la función de la membrana neuronal incluidos cambios locales en las concentraciones iónicas y alteraciones en la polaridad de las proteínas transmembranales debido a modificaciones en las propiedades electrolíticas de hidrógeno expuestas a un constante campo eléctrico.

Los cambios a corto y largo plazo se pueden analizar mediante la facilitación e inhibición cortical de las descargas. Durante la estimulación catódica (Eca) hay una reducción de la facilitación intracortical de excitabilidad. En el período post-estimulación, la estimulación anódica (Ean) incrementa la facilitación y reduce la inhibición, sugiriendo que la TDCS modula la excitabilidad con efectos tanto en interneuronas como en neuronas excitadoras, cambios que se observan en la facilitación de descargas mediadas por fármacos agonistas GABAérgicos y antagonistas de NMDA, pero no por el bloqueo de canales iónicos, caracterizadas por un aumento en la frecuencia de los retardos temporales de disparo. El papel de las interneuronas GABAérgicas ha demostrado la reducción de períodos cortos de inhibición intracortical e incrementos en la facilitación de descargas después de la estimulación. El mecanismo de este incremento aún no está claro, sin embargo, se hipotetiza que puede deberse al aumento de una inhibición tónica en sitios distantes a los estimulados. No obstante, estos fenómenos también están involucrados en la modificación del microambiente sináptico provocando alteraciones similares observadas en la LTP con incrementos de PPE en el hipocampo (Been, Ngo, Miller & Fitzgerald, 2007; Brunoni et al., 2012; Gschwind, 2017; Stagg & Nitsche, 2011).

Los resultados pueden tener una gran variabilidad, pues la LTP depende de una disminución en el tono GABAérgico, misma que se ve incrementada para facilitar las descargas, ambos efectos observados después de la TDCS. Una posible explicación es que el aumento de inhibición tónica en sitios distantes sea una respuesta compensatoria a la excitabilidad inducida por el estímulo evitando la propagación de la actividad, generando un foco de neurotransmisión glutamatérgica recluido al hipocampo. El incremento de liberación y unión

(*binding*) en los receptores NMDA activa a las ptdIns3, proteínas transmembranales que están asociadas a la fosforilación de TrkB que provoca la activación de mecanismos de señalización intracelular involucrados en el crecimiento y proliferación celular, mediadas por cAMP, mTOR y JAK-STAT. Estas alteraciones en la dinámica molecular de la neurona resultarían un una *up-regulation* de receptores AMPA y un incremento en la despolarización de la célula, liberando glutamato para iniciar de nuevo el ciclo en otras células. Estos procesos claramente son controlados por la inhibición tónica.

Se ha reportado también que estos efectos tienen un gran impacto en fenómenos plásticos del hipocampo mediante receptores  $\beta$ -adrenérgicos vía receptor D1 dopaminérgico facilitando la excitabilidad dependiente de la LTP, activando mecanismos de señalización mediados por cAMP. Adicionalmente existe una activación de cambios en los factores de crecimiento regulados por BDNF con una importante elevación de la proliferación celular. Estas variaciones en su expresión pueden tener un componente dependiente de genes involucrados en la plasticidad cortical debido a la existencia de polimorfismos específicos que hacen al tejido más o menos sensibles a la supervivencia neuronal (Fernandes, Custodio, Pinto, de Souza, Deitos, Sarah, Fregni, Caumo & Torres, 2012). El aumento en la fosforilación de cAMP activa la proteína CREB, sugiriendo que la TDCS incrementa la LTP hipocampal mediante la remodelación de la cromatina regulando las secuencias para la expresión de pro-genes BDNF y sus efectos posteriores al unirse a TrkB (Gschwind, 2017).

Se ha mostrado que la Eca produce efectos anticonvulsivos a través de la hiperpolarización del soma neuronal con alteraciones celulares parecidas a la DBS. El principal efecto en el cambio de polarización membranar está sujeto a la dirección del flujo de corriente en la neurona, estos potenciales pueden diferir a lo largo del eje de propagación hiperpolarizando el soma pesar de que las dendritas apicales se encuentren con períodos de despolarización y de manera inversa en la dirección del flujo de corriente. Estas variaciones también están reguladas por la densidad de canales de  $\text{Na}^+$ , pues difiere entre regiones neuronales (menor en dendritas apicales y mayor en la región somática). Por lo tanto, la fuerza del *input* sináptico provocada por la estimulación determinará si los cambios posteriores al tratamiento pueden generar fluctuaciones significativas en la excitabilidad neuronal, lo cual se corresponde también con el tipo de población neuronal que se encuentre (células piramidales requieren de mayores intensidades en el estímulo para que su actividad impacte efectivamente en capas más profundas) (Liebetanz et al., 2006).

Estos cambios a nivel molecular que modifican proteínas intracelulares y membranales inducen alteraciones de la excitabilidad neuronal, resultando en interferencias de actividad oscilatoria epiléptica involucradas en la propagación de las crisis. La estimulación extrínseca puede reducir la hiperexcitabilidad evitando la aparición de descargas en redes ictogénicas. Los efectos anticonvulsivos y antiepilépticos de la TDCS pueden ser observados tanto en modelos experimentales como en la práctica clínica. Los estudios *in vivo* muestran resultados favorables al aplicar Eca unilateral con un tren simple de pulsos bifásicos (50 Hz, 2 ms, 2  $\mu$ A) en ratas que manifiestan crisis convulsivas inducidas por rampas de corriente, produciendo un incremento en el umbral de activación del foco convulsivo por más de dos horas y sin alterar las respuestas inmunológicas que favorecen la epileptogénesis, tales resultados muestran que no se genera daño neuronal al modular la actividad microglial. Después del SE inducido por la aplicación de pilocarpina se observa una reducción de hasta un 21% en la aparición de crisis y de pérdida neuronal hipocampal por excitotoxicidad al aplicar Eca (200  $\mu$ A, 30 minutos, 2 semanas) incrementándose la proliferación celular.

Este mismo tipo de estimulación (1 mA, 20 minutos) suprime significativamente las DIE desde la dosis inicial, con una menor duración de las CCGTC e incremento de latencia después de la segunda dosis en el modelo de PTZ. También se ha reportado que la TDCS tiene un efecto sinérgico al utilizar fármacos anticonvulsivos como el lorazepam, incrementando su eficacia en la intervención contra el SE. Utilizando modelos genéticos de epilepsia de ausencia se observa que la Eca bilateral disminuye la aparición de descargas tipo espiga-onda, frecuencia que es proporcional a la intensidad con la que se induce la corriente en el estímulo. Clínicamente se ven efectos protectores similares contra la ocurrencia de crisis. En pacientes que tienen condiciones refractarias de epilepsia se muestra que en tratamiento activo catódico (1 sesión, 2 mA, 20 minutos) existe una reducción significativa del 64% en las DIE. En otro estudio con pacientes que presentan espigas continuas en el síndrome oscilatorio de sueño de ondas lentas, la TDCS ha mostrado disminuir la actividad epileptiforme en sesiones simples (2 mA, 20 minutos) al aumentar su focalización en la zona ictogénica.

En síndromes epilépticos parciales se ha aplicado Eca simple (1 mA, 20 minutos) que suprime la actividad epileptiforme hasta 48 horas con una reducción en la frecuencia de las crisis. Pacientes con descargas tipo espiga-onda refractarias durante el sueño de ondas lentas muestra resultados muy similares reduciendo la aparición de las DIE. Existe también evidencia de efectos anticrisis y anticonvulsivos por la TDCS en la ELTM con esclerosis hipocampal y farmacorresistencia, disminuyendo la ocurrencia de las crisis y de las DIE con variaciones en sus porcentajes como lo muestran las reducciones de 31.5 %, 57%

y 83%, efectos sostenidos de 1-48 horas después del tratamiento con sesiones de 1-2 mA, por más de dos meses con duraciones de entre 20 a 60 minutos (San-Juan et al., 2015; San-Juan et al., 2017; Dhamne et al., 2015).

La eficacia de la TDCS para modular las crisis depende también de cuando se lleve a cabo el tratamiento, teniendo efectos más notables cuando la actividad epiléptica se encuentra restringida en una zona específica del cerebro, por lo cual la focalización del campo eléctrico sobre el tejido ictogénico es crucial para disminuir el reclutamiento de neuronas adyacentes y la posterior generalización en otras áreas cerebrales. Como en otras metodologías de neuromodulación eléctrica, la combinación de la estimulación con técnicas de registro de actividad neuronal como el EEG puede ser una excelente herramienta para ubicar el foco convulsivo. De esta forma se puede obtener: 1) un registro continuo de la actividad epileptogénica durante una sesión de TDCS, 2) una cuantificación fiable de los eventos interictales y 3) de ser necesario una optimización en la configuración de los electrodos de estimulación en distintas locaciones del foco epileptogénico (Faria et al., 2012). No obstante, mucha de la información obtenida sólo explica la magnitud del campo eléctrico sin incluir los efectos direccionales de los componentes del campo eléctrico paralelos a su trayectoria y dependientes de su polaridad. Las variaciones perpendiculares del campo tienen importancia especial pues las células piramidales tienden a alinearse perpendicularmente a la superficie del tejido con algunas otras proyecciones interneuronales y axonales alineadas paralelamente (Miranda et al., 2013).

Recientemente se ha desarrollado un nuevo tipo de neuromodulación eléctrica que tiene efectos anticonvulsivos al inducir corriente de una forma más focalizada. Estas diferencias vienen dadas por el tipo de campo eléctrico que genera, el tamaño y la forma del electrodo con la ventaja de configurar la polaridad de distintas formas. La fase de simulación computacional y experimentación animal ha mostrado que la EETF vía ETAC tiene efectos terapéuticos en diferentes modelos de epilepsia. En el siguiente capítulo se abordarán distintos aspectos que describen las metodologías de su desarrollo como una potencial alternativa de tratamiento en la ELTM.

### **3.4. Consideraciones acerca de los tratamientos para la epilepsia: efectos colaterales**

A pesar del surgimiento de nuevos blancos farmacológicos, técnicas resectivas y sistemas de estimulación para el tratamiento de la epilepsia, existen varias alteraciones fisiológicas, anatómicas y cognitivas provocadas por tales terapéuticas que afectan significativamente la calidad de vida del paciente y que incluso pueden llegar a crear nuevos focos epileptógenos, agravando la condición patológica. Muchos de los FAE empleados generan efectos secundarios que pueden ir desde reacciones leves hasta procesos más graves. Los efectos adversos de los fármacos sobre el aprendizaje, la conducta y las funciones ejecutivas pueden manifestarse dependiendo de su relación con el mecanismo de acción, la dosis administrada, los niveles séricos, la respuesta biológica del paciente y la aparición precoz, crónica o diferida del efecto nocivo. Los más comunes y leves son la somnolencia, fatiga crónica, ataxia, dolor de cabeza, confusión, diplopía, astenia, pérdida de peso, mareos, disminución de la memoria verbal y temblor en extremidades, no obstante, existen pacientes que pueden presentar efectos adversos de mayor consideración como depresión y psicosis reversibles, anorexia y desequilibrios electrolíticos que provocan hiponatremia. Los FAE que están implicados en tales alteraciones son los de primera generación como el fenobarbital, primidona y fenitoína así como los de segunda y tercera generación como el vigabatrin, lamotrigina, topiramato, tiagabina, oxcarbazepina y zonisamida (Britton & So, 1995; García-Peñas, Fournier-Del Castillo & Domínguez-Carral, 2014).

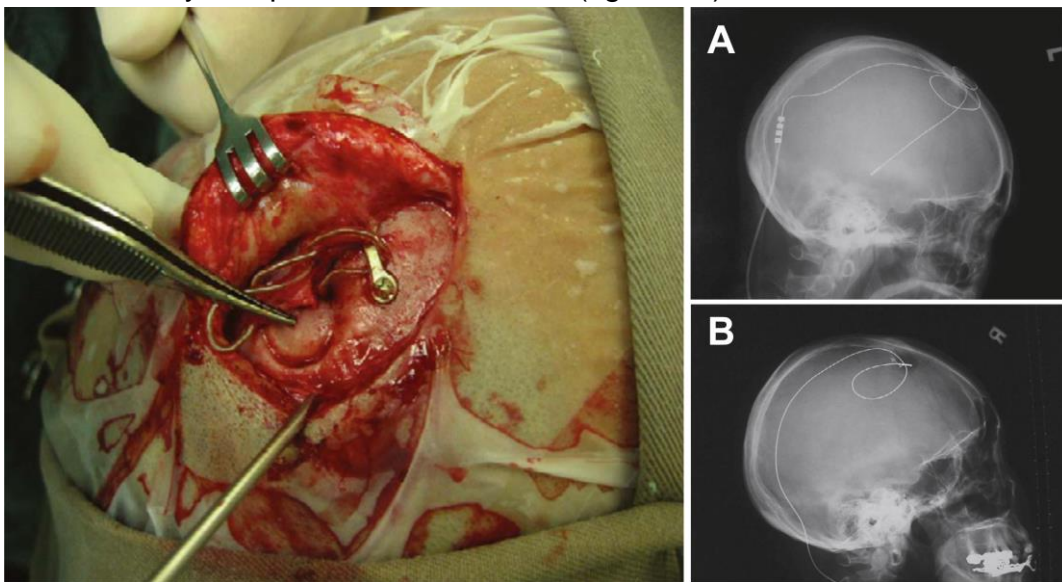
En condiciones de farmacorresistencia, la cirugía resectiva presenta muy buenos resultados en el control de las crisis epilépticas, sin embargo, sigue siendo un procedimiento que en la experiencia clínica produce frecuentemente cambios conductuales y cognitivos. Esta terapéutica sigue siendo considerada dentro de las últimas opciones de tratamiento, específicamente después de daño neuronal irreversible como consecuencia de crisis espontáneas. La reducción en la aparición de crisis es considerada como el mejor predictor de la calidad de vida en pacientes con epilepsia, sin embargo, no implica necesariamente que el paciente tendrá una evolución favorable. En la mayoría de los pacientes sólo existen mejoras cuando hay una ausencia total de crisis, no obstante, se han reportado poblaciones considerables de pacientes libres de crisis que tienen índices de calidad de vida menores que aquellos a los que no se les ha practicado una cirugía resectiva. Los pacientes que presentan reducciones parciales en la aparición de crisis después de la intervención, frecuentemente tienen dificultades para ser independientes, requiriendo del cuidado crónico de algún familiar. Las

crisis pueden regresar y ser proporcionales al tejido removido. En análisis longitudinales, los pacientes con un control completo de las crisis pueden tener reducciones en la eficacia del tratamiento que disminuye progresivamente hasta 55% en 2 años post-cirugía, 47% en 5 años y 41% en 10 años. También se han reportado fallas para lograr el control de las crisis debido a la generación de focos epileptogénicos contralaterales o extratemporales. Los cambios cognitivos asociados a la cirugía están ligados a las alteraciones emocionales que se presentan en los meses siguientes al procedimiento. Específicamente en la ELTM son los déficits en la memoria el principal problema. El decline post-operatorio en la memoria es conceptualizado como producto de la adecuación funcional debido a la remoción del tejido y a la reserva funcional de las estructuras remanentes. El aprendizaje y adquisición de la información tienden a ser representadas corticalmente, mientras que la consolidación y procesos de recuperación son más dependientes de estructuras temporales mesiales como el hipocampo y la AM, mismos procesos que se ven afectados por la remoción de estas estructuras en la cirugía (Baxendale, 2008; Chang, Englot & Vadera, 2015). Otro problema de practicar la cirugía se observa durante las evaluaciones pre-quirúrgicas, donde algunos de los pacientes son descartados para ser sometidos a procedimientos invasivos mayores ya sea porque la localización de su foco epiléptico es difícil de delimitar o compromete estructuras vitales. Algunas condiciones patológicas como síndromes metabólicos, hipertensión y problemas de coagulación impiden que el paciente sea sometido a una cirugía.

Respecto a los protocolos de neuroestimulación, como la VNS o la DBS, frecuentemente provocan efectos secundarios relacionados con el implante del dispositivo. Pacientes que han sido sometidos a cirugías de VNS reportan que después de la intervención se manifiesta tos frecuente (14%), ronquera (28%), alteraciones de la voz (13%), parestesias (12%), dolor de cabeza (4.5%), respiración interrumpida (3.2%) y otros síntomas menos frecuentes, pero más severos como bradicardia y acistolia grave. En niños con epilepsia la VNS ha mostrado provocar alteraciones en la tasa respiratoria y la sincronización cardiorespiratoria, tos, ardor de la garganta, cambios en la voz y alteraciones de la piel. Incluso a intensidades bajas de estimulación (0.25 mA) se reporta contracción de las cuerdas vocales, apnea del sueño y reflujo gastroesofágico. Las secuelas directas por fallas durante la cirugía incluyen infecciones (3-5%), hemorragias, daño a la arteria carótida, daño al nervio laríngeo, parésis temporal facial, acumulación de líquido en la incisión, fracturas y traumas externos del cuello (Ghani, Vilensky, Turner, Tubbs & Loukas, 2015; Parakh & Katewa, 2014; Ramani, 2008; Wu & Sharan, 2013). Otros efectos están relacionados con el dispositivo que incluyen la discontinuación de la VNS por reoperación como consecuencia de batería baja y la tracción del nervio por exceso de manipulación provocando una

isquemia local que deja parálisis de cuerdas vocales y disfunción en el tragar (DeGiorgio & Krahl, 2013). Estos daños colaterales conducen a modificaciones en los parámetros de estimulación como disminución de la frecuencia, del ancho del pulso y menor intensidad de corriente, lo que podría reducir la eficacia de la VNS para controlar las crisis.

Por otro lado, el número de procedimientos de neuroestimulación a través de la DBS se ha incrementado y un nuevo grupo de problemas sobre sus complicaciones ha surgido. A pesar de la minuciosidad de la evaluación preoperatoria que incluye la delimitación funcional y espacial del foco epileptógeno, se requiere de un alto grado de precisión en la cirugía, lo que dificulta la intervención y las fallas durante el procedimiento pueden surgir fácilmente. Se puede presentar un mal posicionamiento del electrodo que dejan una estimulación sin efecto terapéutico y con efectos adversos. Esta condición puede ser provocada por la fractura del electrodo en los puntos de anclaje que interrumpen la estimulación. Un anclaje inapropiado y la pérdida de la miniplaca son muy frecuentes y pueden provocar la migración de las partes del electrodo haciendo muy complicada su extracción (figura 20).



**Figura 20. Efectos colaterales en sistemas de DBS.**

Izquierda: intraoperación exploratoria donde se puede apreciar el cable fracturado por la miniplaca, presionando el tejido. Derecha: en **A**) y **B**) migración del cable del electrodo de una región subcortical después de una falla en la colocación. Modificado de Chan et al., 2009

Otra de las consecuencias son los procesos infecciosos que podrían presentarse en las primeras cuatro semanas post-operatorias ocasionando la erosión del electrodo, hemorragias, hematomas, infarto del tejido y en muy raros casos, la muerte del paciente (Chan et al., 2009; Fisher & Velasco, 2014). Durante la sesión de estimulación también se han reportado algunos efectos adversos como

ideaciones paranoicas, presencia de nistagmo (movimiento involuntario de los ojos), alucinaciones auditivas, dolor en el sitio de estimulación, desórdenes del movimiento y letargo (Halpern et al., 2008; Klinger & Mittal, 2016). Algunos pacientes reportan también la aparición de problemas del estado de ánimo post-operatorios como depresión transitoria y episodios maniacos que generalmente desaparecen conforme avanza el tratamiento, no obstante, se llevan a cabo evaluaciones cognitivas paralelas ya que tales efectos podrían indicar riesgos para el empeoramiento de la condición. Estudios clínicos indican el agravamiento en la manifestación de las crisis mioclónicas, aunque sólo se presentan en un 2.4% (Klinger & Mittal, 2016).

Como consecuencia de las fallas en las intervenciones quirúrgicas invasivas para el control de crisis, las terapéuticas no invasivas transcraneales son una alternativa con menos efectos colaterales. A pesar de que la TMS se considera segura, existen algunas alteraciones de intensidad moderada que se presentan durante la estimulación como dolor de cabeza transitorio, dolor en el sitio de estimulación, contracciones musculares, tinnitus transitorio, irritación de la piel, sacudidas de las extremidades superiores, náusea o vómitos, dolor en el cuero cabelludo, brazo y pierna en forma simultánea y defectos visuales transitorios (hemianopsia). En la post-estimulación sólo se han presentado porcentajes bajos de pacientes con dificultad para dormir. También es relevante considerar los casos en los que el uso de antidepresivos facilita la generación de las crisis en el curso de la TMS, pues muchos de las pacientes presentan comorbilidad psiquiátrica con la depresión (Pereira et al., 2016; Carrete et al., 2016). Otro aspecto a considerar es la asistencia de personal especializado durante las sesiones terapéuticas. La generación del campo magnético requiere de mucha potencia en el estimulador, alrededor de 4000 KW que pueden progresivamente deformar la bobina. Esta condición altera la difusión del campo y la equivalencia de corriente disminuye, generándose un incremento en el ruido que toma valores de hasta 140 dB, pudiendo perjudicar las estructuras del oído, por ello la evaluación del equipo en el curso del tratamiento se vuelve crucial para reducir los efectos adversos (Heinrichs, 2012). La TDCS presenta menos daños colaterales y dependen de la posición de los electrodos. Los pacientes reportan dolor de cabeza leve, comezón y eritema en el sitio de estimulación, sensación de estremecimiento debajo del electrodo, fatiga después del tratamiento, náuseas, mareo y con menor frecuencia, insomnio (George & Aston-Jones, 2010; Nitsche et al., 2008; San-Juan et al., 2015).



---

# CAPÍTULO 4 ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA TRANSCRANEAL FOCAL VÍA ELECTRODOS TRIPOLARES DE ANILLO CONCÉNTRICO

–Has puesto tu Penfield demasiado bajo –le dijo él–.  
Lo ajustaré y cuando te despiertes...  
–No toques mis controles. –Su voz tenía amarga  
dureza-. No quiero estar despierta.

Él se sentó a su lado, se inclinó sobre ella y le explicó suavemente:  
–Precisamente de eso se trata. Si le das bastante volumen te sentirás  
contenta de estar despierta. En C sobrepasa el umbral que apaga la conciencia.

En la consola vaciló entre marcar un inhibidor talámico (que suprimiría su  
furia), o un estimulante talámico (que la incrementaría lo suficiente para triunfar en  
una discusión).

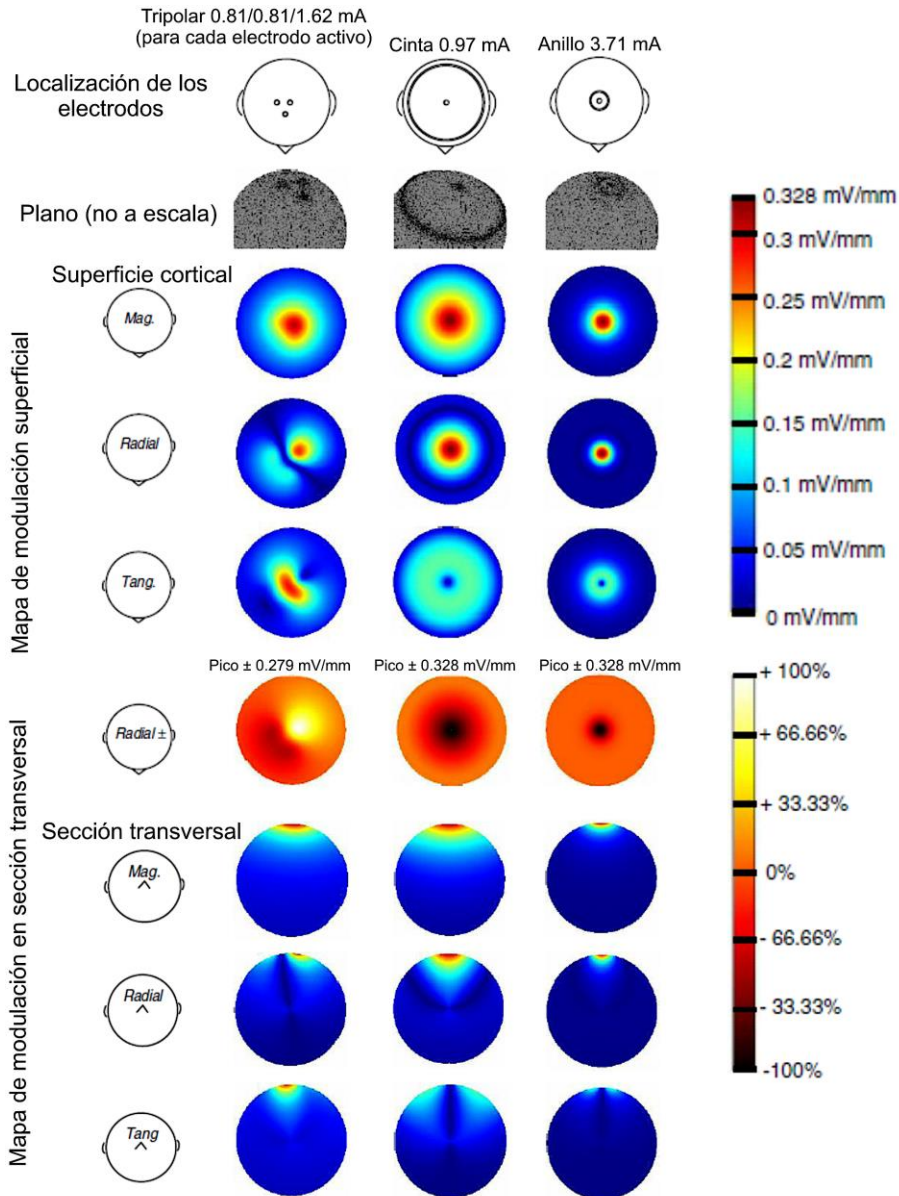
*¿Sueñan los androides con ovejas eléctricas?. Philip K. Dick, 1968*

Rick Deckard: –¿Es artificial?.  
Rachel: –Naturalmente.  
*Blade Runner. Ridley Scott, 1982*

Generalmente la estimulación transcraneal mediante corriente utiliza un ánodo y un cátodo que generan un campo eléctrico modulando la actividad cerebral, no obstante, es posible cambiar la configuración del electrodo utilizando la configuración de anillo o unifocal, optimizando la geometría y el número de electrodos empleados. Un factor importante para la efectividad en la TDCS es la seguridad de la extensión espacial inducida por la densidad de los flujos de corriente.

La focalidad espacial ha sido propuesta como un método en la optimización de la distribución del campo (figura 21). Usando esta estrategia se tienen electrodos en configuración bipolar discal con una disposición espaciada entre cada uno de ellos (bipolar distante y bipolar adyacente) además de tres configuraciones de anillo (configuración de cinta, anillo concéntrico y doble anillo concéntrico). El análisis de la distribución del campo eléctrico mediante elementos finitos de esfera concéntrica y dependiente de la geometría configurada, permite un diseño racional de estimulación que puede ser usado en tratamientos clínicos como lo es la EETF vía ETAC.

La simulación computacional permite estimar la distribución del campo eléctrico usando diferentes configuraciones del electrodo. Describiendo las configuraciones de disco empleadas están: 1) estimulación distal bipolar que resulta en una relativa difusión cortical de profunda modulación. La corriente atraviesa la corteza debajo de cada electrodo y de forma transversal produciendo un campo radial para cada uno y un campo tangencial entre ellos. El pico interior y exterior de las corrientes radiales son equivalentes, lo que genera una regulación bidireccional. Al incrementar la proximidad de los electrodos bipolares se activa la 2) estimulación bipolar adyacente resultando en un mayor flujo de corriente que se distribuye en toda la superficie de la cabeza. El equivalente de corriente para generar un pico en el campo eléctrico cortical se incrementa hasta en un 40% (de 1 a 1.43 mA). Además, las corrientes bidireccionales radiales persisten con campos corticales tangenciales, lo que genera un solo pico de distribución con ambos electrodos, focalizando más el estímulo a lo largo de la superficie y en la profundidad. La 3) estimulación tripolar divide de manera efectiva la corriente anódica dentro de dos electrodos (0.81 mA de corriente equivalente a dos ánodos y 1.62 mA a un cátodo efectivo) con una magnitud de campo focalizado similar a la estimulación bipolar adyacente, aunque los patrones direccionales en la superficie indican que mientras las corrientes radiales predominan debajo de un cátodo simple, las corrientes tangenciales lo hacen debajo de dos ánodos.



**Figura 21. Modelo de elementos finitos para campos eléctricos cerebrales inducidos por varias estimulaciones superficiales.**

Para las configuraciones ilustradas (de izquierda a derecha), el total de corriente del electrodo  $I_{eq}$  fue ajustado para producir  $0.328 \text{ mv/mm}^{-1}$  en el pico de intensidad del campo eléctrico, hasta 1 mm debajo de la superficie cortical para activar neuronas de forma efectiva. Los primeros dos diagramas en fila indican la geometría del electrodo y su plano de configuración. Los diagramas en fila restantes indican los campos eléctricos en diferentes planos y direcciones. El trazo de superficie-magnitud mapea la magnitud del campo eléctrico a lo largo del hemisferio superior de la cabeza, 1mm debajo de la superficie cortical. El trazo de superficie-radial y superficie-tangencial se descomponen en esas dos direcciones. Nótese que en la estimulación tripolar existen diferencias significativas entre los trazos de superficie-magnitud y de superficie-transversal (radial y tangencial) en comparación con las configuraciones de cinta y de anillo que tienen trazos muy similares siendo consistente con la dominancia radial en el flujo de corriente cortical. Los trazos de superficie radial  $\pm$  están normalizados con respecto al pico de intensidad del campo eléctrico, indicando cual de las configuraciones produce una modulación radial bidireccional. El trazo de magnitud-sección transversal mapea la magnitud del campo eléctrico en una sección transversa centro-cortical. El trazo sección transversal radial y sección transversal tangencial se descomponen en una superficie normal y a lo largo de la superficie cerebral respectivamente. Todas las secciones transversas del campo eléctrico están construidas en una escala espacial. (nota: mag, rad y tang refieren a magnitud, radial y tangencial). Modificado de Datta et al., 2008.

En las configuraciones de anillo están: a) la configuración de cinta, que aunque tiene una distribución parecida a la estimulación distal bipolar requiere de menor equivalencia de corriente (0.97 mA) teniendo una mayor densidad de corriente radial atravesando la superficie cerebral debajo del centro del electrodo de disco. La vía de regreso de corriente para el electrodo de cinta es relativamente difusa. El resultado en la distribución del flujo es de manera unidireccional con una modulación radial debajo del disco central. b) La configuración de anillo tiene una mayor focalidad relativa con un mayor gasto de equivalencia de corriente (3.71 mA).

Similar a la estimulación de cinta, los campos eléctricos son predominantemente radiales y unidireccionales debajo del electrodo de disco. En el caso de la configuración de anillo en forma concéntrica, la corriente atraviesa el tejido cerebral con una alta densidad debajo del disco para después distribuirse rápidamente en la corteza. La corriente permanece difusa al salir del tejido para regresar al electrodo de anillo a través del cuero cabelludo. El incremento de corriente equivalente refleja la porción de corriente que se distribuye entre el disco y el electrodo de anillo a lo largo del cuero cabelludo sin atravesar el cerebro. Al incrementar el diámetro del anillo disminuye la fracción del flujo que se distribuye, por lo que se requiere de una corriente equivalente a costa de reducir la focalización.

Para moderar los diámetros entre anillos y la distribución de sus respectivos campos se utiliza la configuración de doble anillo concéntrico, donde el flujo se genera debajo del anillo concéntrico con un área de estimulación radial cortical que presenta incrementos y disminuciones en la corriente equivalente al aumentar el diámetro del anillo exterior. La selección apropiada de los diámetros y/o el uso de corrientes asimétricas (donde la corriente anódica total en el disco interior y del disco exterior no es igual) resultan en la generación de regiones de modulación. El balance relativo del campo eléctrico tangencial versus el radial puede ser controlado.

Sugiriendo estos factores en la práctica clínica, se ilustra como el número y tamaño de los electrodos, así como el balance de corriente pueden ser regulados independientemente para diseñar varias configuraciones de estimulación (Datta et al., 2009; Datta et al., 2008).

## 4.1. Potenciales bidimensionales y modelo computacional

El desarrollo de un ETAC requiere de un mapeo de los componentes espaciales en la actividad generada por el campo eléctrico. Estos componentes son estimados mediante un Laplaciano o análisis de potenciales derivativos bidimensionales de superficie. Con esta metodología se registra la actividad EEG de un gran número de electrodos, produciendo así una resolución espacial de los potenciales eléctricos. El análisis se enfoca en la relación del incremento en la frecuencia (variable escalar) de esos potenciales y su selectividad espacial (variable vectorial) que se localiza cerca del punto de aplicación del estímulo. La estimación del Laplaciano en los ETAC resulta más eficiente en este tipo de electrodos que en otros sistemas debido a que el operador es un diferencial elíptico, facilitando la solución de derivadas parciales del anillo en un plano cartesiano. Las disposiciones concéntricas actúan como filtros espaciales los cuales dependen del número de anillos y de su grosor, brindando a cada uno de ellos un incremento en su selectividad espacial. Los potenciales Laplacianos de las configuraciones bipolares y tripolares de anillo concéntrico se pueden calcular usando un operador diferencial llamado  $\Delta p_0$ , donde la configuración bipolar se describe por:

$$\Delta p_0 \cong V_o - V_d$$

Donde  $V_o$  indica el voltaje generado en el anillo exterior y  $V_d$  es el voltaje del disco central mientras que la configuración tripolar de anillo concéntrico se calcula mediante:

$$\Delta p_0 \cong 16 (V_m - V_d) - (V_o - V_d)$$

Donde  $V_o$  y  $V_d$  fueron previamente definidos, y  $V_m$  representa el voltaje del anillo medial (Koka & Besio 2007).

Utilizando modelos computacionales es posible calcular la distribución de las diferencias de potencial con resolución espacial y sensibilidad local en las configuraciones bipolar concéntrica, quasi-bipolar concéntrica y el sistema de electrodos de disco basándose en aproximaciones numéricas diferenciales de un sensor tripolar Laplaciano con un diseño de diámetro de 1 cm. De esta forma se distribuyen 12 mediciones desde  $V_0$  hasta  $V_{12}$  que pertenecen a los puntos  $p_0$  hasta  $p_{12}$ . El Laplaciano  $\Delta$  a un punto  $p_0$  presenta potenciales  $V_5, V_6, V_7$  y  $V_8$  con un espaciamiento equivalente a  $2r$ , formando 5 puntos con los valores exteriores respecto del centro y en un arreglo de varias series de expansión con diferencias de aproximación finitas que pueden formar 9 puntos como se observa en la figura 22, izquierda.

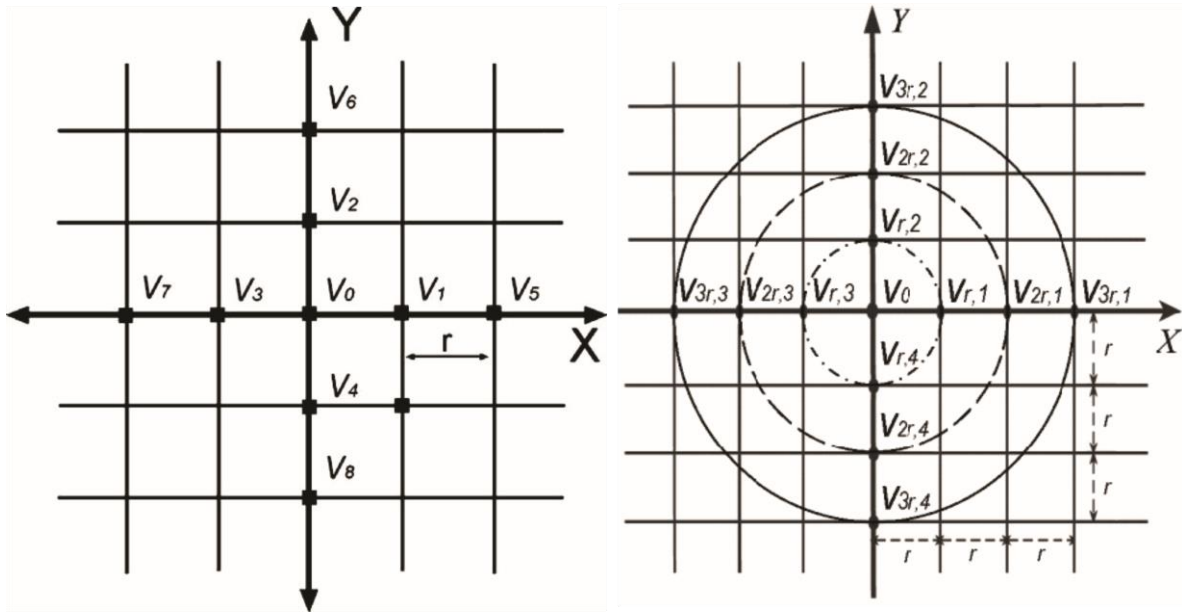


Figura 22. Distribución de mediciones de voltaje en un ETAC.

Izquierda: arreglo de series de 5 y 9 puntos en un plano cartesiano regular de tamaño  $n \times n$  y espaciado con  $r = 1/N$ .  $V_0$  a través de  $V_{12}$  son los potenciales correspondientes de los puntos  $p_0$  a través de  $p_{12}$ , respectivamente.  $V_5, V_6, V_7, V_8$  y  $V_0$  del arreglo de 5 puntos y  $V_0$  a través de  $V_8$  formando un arreglo de 9 puntos. De esta forma se obtienen valores de diferencia de potencial distribuidos en dos dimensiones a lo largo del anillo. Derecha: incremento y decremento lineal de las distancias  $r$  para cada  $V$  inter-anillo de un etac. Nota: línea tipo  $-----$  representa el anillo interno y el incremento en la distancia inter-anillo, línea tipo  $-----$  representa el anillo interno y el decremento de la distancia inter-anillo, línea tipo  $-----$  representa el anillo externo y el incremento/decremento de la distancia inter-anillo. Izquierda tomado de Besio, Akkula, Koka & Dai, 2006a. Derecha tomado de Makeyev & Besio, 2016b.

Por tanto, la aproximación del potencial Laplaciano a un punto dado  $p_0$  en el plano cartesiano es entonces:

$$\Delta p_0 \cong \frac{4}{(2r)^2} (\bar{v} - v_0)$$

Donde  $\bar{v} = \frac{1}{4} \sum_{i=5}^8 v_i$  es el promedio de los potenciales generados en los 4 puntos. Al aplicar el análisis con una configuración bipolar concéntrica se lleva a cabo un cálculo de los mismos potenciales a lo largo del radio del anillo  $2r$  alrededor del punto  $p_0$  empleando de nuevo series de expansión en los ejes  $X = 2r \cos(\theta)$  y  $Y = 2r \sin(\theta)$ , quedando:

$$\Delta p_0 \cong \frac{4}{(2r)^2} \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} (v(2r, \theta) - v_0) d\theta$$

Para el análisis de la misma distribución en la configuración quasi-bipolar concéntrica se usan los puntos desde  $p_1$  a  $p_8$  y  $p_0$  como en la figura 22, derecha. En esta configuración el electrodo tiene los 3 elementos (el disco, el anillo medio y el anillo exterior), no obstante, el cálculo de la distribución del voltaje sólo toma en cuenta la adición del anillo exterior y del disco, sustrayendo el valor del disco medio para obtener:

$$\Delta p_0 = \frac{(v_{or} - v_0)}{2} - v_{mr}$$

Donde  $v_{or}$  es el voltaje del disco exterior,  $v_{mr}$  el voltaje del anillo medio y  $V_0$  es el voltaje del disco. Para comparar las diferencias entre los modelos se desarrolla un modelo computacional con un plano cartesiano de 400 x 400 y un espacio de 1/400 en un plano por encima del dipolo orientado hacia la dirección positiva del eje Z como se observa en la figura 23.

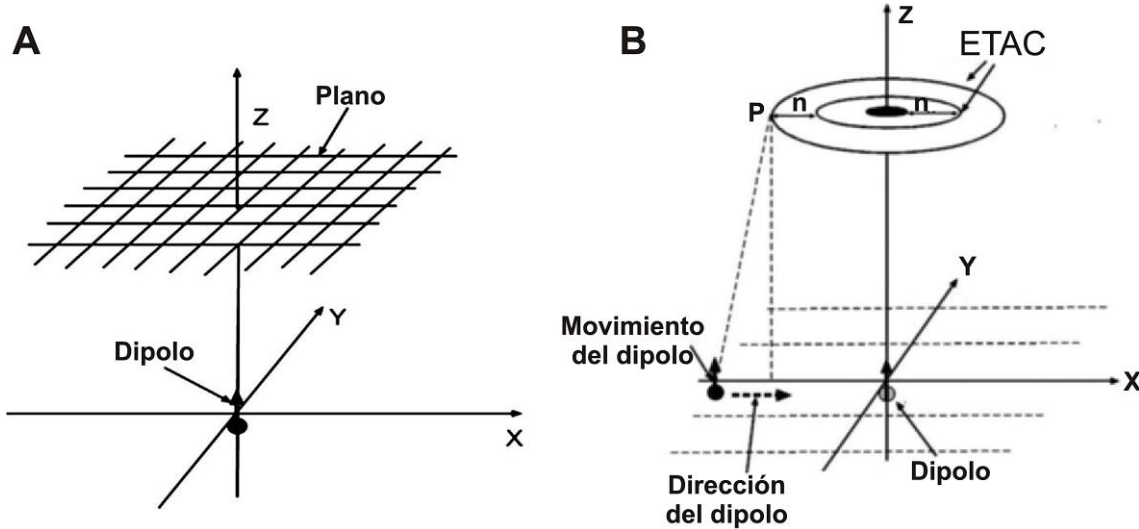


Figura 23. Modelo computacional de un dipolo en un plano.

Izquierda: esquema que presenta las diferencias finitas en un modelo computacional con un plano cuadrangular de tamaño  $n \times n$  de espaciado  $r = 1/n$  a partir del dipolo. Derecha: esquema que presenta el movimiento del dipolo en un modelo computacional. El dipolo se dirige hacia el eje positivo z y es movido gradualmente 1cm en un intervalo de 1 a 4 cm. Simultáneamente el dipolo también se mueve de izquierda a derecha de 5 a 5 cm a lo largo del eje x. El anillo medio es usado para las configuraciones quasi-bipolar y tripolar del electrodo. Modificado de Besio et al., 2006b.

Cada uno de los puntos en el plano representa potenciales generados por un dipolo dónde se calcula el potencial eléctrico  $\phi$  debido a la media homogénea de conductividad  $\sigma$  usando:

$$\phi = \frac{1}{4\pi\sigma} \frac{(\vec{r}_p - \vec{r}) \cdot \vec{p}}{|\vec{r}_p - \vec{r}|^3}$$

Donde  $\vec{r} = (x, y, z)$  y  $\vec{p} = (p_x, p_y, p_z)$  representa la localización en el momento del dipolo, y  $\vec{r}_p = (x_p, y_p, z_p)$  la observación conjunta en un punto. La conductividad  $\sigma$  media es de 7.12 mS/cm, emulando el tejido biológico.

Para este modelo se asume que la media es homogénea con  $\vec{p} = (0,0,1)$  con un período constante  $\vec{p}/4\pi\sigma$ . Calculando el Laplaciano en cada punto del plano considerando la segunda derivativa del potencial eléctrico  $\phi$  descrito en la fórmula anterior queda:

$$L = \Delta\phi = \frac{\partial^2\phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2\phi}{\partial y^2}$$

Mediante las variaciones en los potenciales eléctricos y dependiendo de qué anillo se utilice, al final se obtienen 3 configuraciones convencionales que se pueden emplear para ensayos: 1) La configuración de disco, 2) la configuración bipolar concéntrica y 3) la configuración tripolar concéntrica (Besio et al., 2006a, 2006b; Makeyev & Besio, 2016a, 2016b). Observando la dinámica de distribución de corriente en el tejido, la EETF vía ETAC puede dirigir el campo eléctrico en la superficie cortical de forma efectiva, manteniendo la equivalencia de corriente entre anillos para generar una constante eléctrica de los potenciales difundidos.

## 4.2. Hallazgos experimentales

La polarización de membrana durante la inducción de un campo eléctrico estático es el mecanismo de neuromodulación con mayor relevancia, sin embargo, ese proceso depende de la orientación relativa del vector de corriente eléctrico extracelular, el cual no es uniforme para todas las neuronas en un volumen de tejido cerebral estimulado. La activación de dos neuronas que ocupan la misma región estimulada responden al campo eléctrico de manera diferencial, ya sea que el axón estimulado esté dirigido hacia una propagación catodal y que otro lo esté hacia una propagación anodal (Kabakov, Muller, Pascual-Leone, Jensen & Rotenberg, 2012). La configuración tripolar concéntrica en forma de cinta muestra una difusión más uniforme en superficies corticales y en secciones transversales con vectores radiales y tangenciales, así los potenciales del campo tienen valores de activación neuronal uniformes y equidistantes, haciendo a este tipo de estimulación más efectiva.

La EETF vía ETAC se ha empleado en ensayos experimentales utilizando modelos animales para analizar su efecto en estructuras subcorticales. Besio et al. (2011), midieron los potenciales eléctricos generados por la EETF mediante pulsos rectangulares (300 Hz, pulsos bifásicos de 200  $\mu$ s a 103  $\mu$ A con incrementos graduales de 20%) en cerebros *in vivo* de ratas, específicamente en el hipocampo ventral en configuración bipolar. Al inducir el estímulo incluso a la corriente más baja (103  $\mu$ A) existe un incremento gradual y dependiente del tiempo en los potenciales eléctricos que se difunden en el tejido, además de comprobar la focalización, pues el ETAC concentra la actividad directamente debajo del disco central, atenúandose bruscamente y de forma radial los valores de los potenciales fuera del anillo externo. Este tipo de estimulaciones parecen no tener efectos adversos sobre los tejidos de la piel en los que se aplica, encontrándose con densidades de energía por debajo de 0.92 ( $A^2/cm^4 \cdot S^{-1}$ ) y con



temperaturas que se encuentran dentro de los límites de seguridad. El análisis histológico muestra que la dermis se mantiene normal, sólo con daños al citoplasma celular induciendo altas densidades de energía, no obstante, estos cambios son totalmente reversibles (Besio, Sarma & Spaulding, 2010).

Para probar la efectividad de la EETF vía ETAC, se han llevado a cabo una serie de investigaciones donde se muestra el efecto anticonvulsivo de esta estimulación en varios modelos experimentales de epilepsia.

En 2007 Besio, Koka y Cole indujeron EETF en ratas (200, 300, 500 o 750 Hz, pulsos bifásicos de 200 a 300  $\mu$ s, 50 o 60 mA, 1 minuto) 5 minutos después de haber iniciado el SE inducido por pilocarpina observándose una atenuación de la actividad electroencefalográfica con una disminución notable de la frecuencia en espigas ictales y ausencia de actividad convulsiva. El índice de supervivencia después de la administración del fármaco se incremento en ratas tratadas con EETF, efectos que perduraron hasta por 48 horas. Los parámetros que brindaron mejores resultados para regular la actividad epileptiforme fueron de 300 Hz con un ancho de pulso de 200  $\mu$ s a 50 mA.

En 2010 Besio, Gale y Medvedev probaron los efectos de la EETF empleando distintos modelos experimentales. Se observó que la estimulación vía ETAC (pulsos monofásicos, 5-40 mA, 6-200 Hz, 1 minuto) reduce progresivamente la presencia de mioclonias inducidas por penicilina hasta desaparecer por unos minutos para retornar con mayor amplitud, pero menor frecuencia. Estos resultados son similares al utilizar PTZ para inducir crisis pues al aplicar EETF (50 mA, 300 Hz, pulsos bifásicos 200  $\mu$ s durante 2 minutos) después de la primera mioclonia disminuye significativamente la duración de las subsecuentes, efectos que perduran hasta desaparecer conductualmente. La reducción máxima de actividad en el EEG se observa durante el primer minuto después de la aplicación de la EETF. Es importante destacar que en ninguna de las investigaciones anteriores la estimulación provocó contracciones o algún signo de dolor en los roedores como sucede con la terapia electroconvulsiva, haciéndolo un método muy seguro con muy buena tolerabilidad.

Posteriormente (Besio, Wang, Medvedev & Koka, 2011; Besio, Makeyev, Medvedev & Gale, 2013) se probó el efecto de la EETF vía ETAC sobre crisis inducidas por PTZ. Después de que los roedores manifestaran la primera mioclonia generalizada se aplicó la EETF (300 Hz, 50 mA, pulsos bifásicos de 200  $\mu$ s durante 2 minutos) la cual provocó una disminución significativa de la actividad cerebral hipersincronizada en las bandas beta (14-31.5 Hz) y gamma (32-59.5 Hz) durante el desarrollo de los estadios iniciales en las crisis, contrario al incremento

de sincronía en las bajas frecuencias de la banda delta (1-4.5 Hz). Concluyendo un segundo experimento, se observó una disminución en la potencia espectral en las bandas de frecuencia delta (1-4.5 Hz), teta (5-8.5 Hz) y alfa (9-13.5 Hz).

Estos efectos refieren a que la EETF interrumpe los procesos de sincronización disminuyendo la frecuencia de oscilaciones de actividad rápida, lo cual evitaría la propagación de las crisis. La disminución de potencia en las bandas de baja frecuencia indicaría que la estimulación interfiere también con los mecanismos de iniciación de actividad hipersincrónica por lo que aplicar la EETF antes de comenzar una crisis provocaría modificaciones en el tejido para hacerlo más resistente a procesos de reclutamiento neuronal.

La inclusión de fármacos que interfieren con procesos epileptógenos ha sido una alternativa que podría emplearse conjuntamente con la EETF con el fin de incrementar la efectividad en el control de las crisis y sus secuelas. La aplicación de EETF preventivamente (300 Hz, 50 mA, pulsos bifásicos de 200  $\mu$ s) en conjunto con dosis subefectivas de diazepam (0.41 mg/kg vía IP) resulta en una protección total contra las crisis con incrementos en la latencia a la primera mioclonia, crisis generalizadas y el establecimiento del SE por pilocarpina comparado con animales que sólo recibieron un tratamiento. Además, se observa una disminución significativa de muerte neuronal hipocampal (CA1, CA3 y giro dentado) por excitotoxicidad.

Estos resultados sugieren que la ETF vía ETAC de forma preventiva disminuye la actividad convulsiva de manera significativa, efecto que es potenciado por la administración subefectiva de diazepam durante las crisis convulsivas, evitando así su evolución a SE. El hecho de que se utilicen dosis subefectivas de este fármaco podría mejorar la calidad de vida del paciente, aminorando notablemente los frecuentes efectos secundarios. La potenciación en los efectos del diazepam por la EETF podría ser debido a la activación de interneuronas inhibitorias, modulando así la actividad excitatoria que participa en el desencadenamiento de las crisis y la culminación del SE (Besio, Cuellar-Herrera, Luna-Munguia, Orozco-Suárez & Rocha, 2013).

---

# 5 JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 5.1. Justificación del problema

Las terapéuticas de neuromodulación eléctrica se establecen como una alternativa eficaz en el control de las crisis epilépticas una vez que se ha confirmado el fenómeno de farmacorresistencia, sin embargo, las técnicas de estimulación transcraneal presentan menos efectos colaterales que otros tipos de tratamiento y se muestran como una forma más viable para el control de crisis en síndromes epilépticos como la ELT. El análisis de los efectos antiepilépticos y anticonvulsivos que ofrecen los distintos protocolos de estimulación transcraneal así como de sus efectos colaterales hacen necesario el replanteamiento de los dispositivos eléctricos hacia prototipos más eficaces, por lo que la decisión de emplearlos se basa principalmente en los siguientes puntos:

1. El evitar procedimientos invasivos como cirugías mayores que pueden comprometer regiones cerebrales de importancia para el funcionamiento normal de las funciones ejecutivas y que podrían disminuir considerablemente la calidad de vida del paciente. La aplicación de técnicas transcraneales de neuromodulación no presentan riesgo de rechazo en el dispositivo y no presentan disminución significativa de su eficacia en el control de crisis.
2. Optimizar el manejo de los equipos especializados y el personal técnico empleados en la neuromodulación eléctrica. De manera frecuente la modulación de la distribución espacial del campo eléctrico y de la señal *versus* el ruido generado son dificultades para la inducción efectiva de un estímulo que maximice la sensibilidad de la respuesta neuronal sin incrementar la intensidad de corriente y sin reducir la focalización. Las nuevas configuraciones en los conductores inducen campos eléctricos eficaces gracias a una equivalencia de corriente constante, por ello que el desarrollo de nuevos dispositivos está enfocado en mejorar la distribución de corriente mediante la combinación de configuraciones de estimulación. De esta forma se impiden daños al tejido, disminuyen los efectos adversos y se conserva la eficacia en el control de crisis. El manejo adecuado de estas variables reduciría en forma significativa los costos para el paciente.

Uno de estos tipos de neuromodulación es la EETF vía ETAC, y los hallazgos reportados parecen posicionar a este tipo estimulación como una alternativa para distribuir eficazmente los potenciales eléctricos del campo con distintas configuraciones en el dipolo y con bajas intensidades de corriente, disminuyendo la generación del ruido. También, los costos de personal especializado para evaluarlo se verían disminuidos por la facilidad de su operación. Este tipo de

estimulación ha demostrado experimentalmente no generar daños en el tejido que es sometido al estímulo ni provoca, al menos en los primeros ensayos conductuales, alteraciones motoras o cognitivas. Además, los resultados encontrados en modelos experimentales de crisis inducidas por agentes químicos son prometedores, disminuyendo significativamente la actividad epileptiforme.

## 5.2. Planteamiento del problema

La estimulación eléctrica transcraneal focal vía electrodos tripolares de anillo concéntrico tiene un efecto significativo sobre la modulación y atenuación de las crisis en varios modelos experimentales de una manera no invasiva y que puede ser utilizada para la epilepsia intratable. Sin embargo, sus efectos sobre la progresión de la epileptogénesis son aún desconocidos, pues no se han descrito si existen diferencias entre el desarrollo de crisis parciales y su transición a crisis generalizadas.

Tomando en cuenta que la efectividad de los tratamientos aplicados mediante estimulación eléctrica y magnética depende fundamentalmente de la posición e intensidad del campo eléctrico que generan sobre regiones específicas del cerebro, se vuelve imperativo investigar si los efectos de la EETF son capaces de interferir con el desarrollo de un foco epiléptico y su posterior generalización a otras áreas utilizando como modelo de epileptogénesis el KEA, y también si estos cambios dependen de si la estimulación es inducida de manera responsiva (interferencia con los mecanismos de iniciación de la PD) o preventiva (interferencia con los mecanismos plásticos que gradualmente resultan en el establecimiento de un foco epileptogénico).

Siendo así, se pueden formular de manera general la siguiente pregunta de investigación:

- ¿Cuál es el efecto de la EETF vía ETAC sobre la progresión de la epileptogénesis utilizando el *kindling* eléctrico amigdalino?

Específicamente:

- ¿Cuál es el efecto de la EETF vía ETAC aplicada de forma responsiva sobre la progresión de la epileptogénesis una vez que se han establecido las crisis parciales utilizando el *kindling* eléctrico amigdalino?

- ¿Cuál es el efecto de la EETF vía ETAC aplicada de forma preventiva sobre la progresión de la epileptogénesis inducida por el *kindling* eléctrico amigdalino?
- ¿Qué efecto ejerce la EETF vía ETAC aplicada de forma responsiva y preventiva sobre la susceptibilidad a las crisis parciales y generalizadas?
- ¿Los protocolos de EETF vía ETAC responsiva y preventiva podrán disminuir de forma significativa la potencia espectral de la actividad EEG durante la actividad post-ictal?

---

# 6 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 6.1. Variables

### 6.1.1. Variables independientes

- Estimulación eléctrica mediante kindling eléctrico amigdalino: un estímulo cada 24 horas hasta desarrollar 3 CCGTC de forma consecutiva.
- EETF vía ETAC aplicada de forma responsiva y preventiva: de forma responsiva mediante un estímulo de forma simultánea a la aplicación de kindling eléctrico, de forma preventiva mediante un estímulo durante 10 días, después se aplica conjuntamente con el kindling eléctrico.

### 6.1.2. Variables dependientes

- Número de estimulaciones necesarias para presentar una crisis generalizada.
- Duración y frecuencia de la PD: medida con la duración en segundos y el número de ciclos por segundo.
- Permanencia en los estadios conductuales del KEA: medida a través del número de estimulaciones por cada estadio conductual.
- Potencia espectral de la actividad EEG: obtenida mediante el voltaje de las ondas en una determinada banda de frecuencia y localizado en un punto específico del tiempo.

## 6.2. Hipótesis

La estimulación eléctrica transcraneal focal vía electrodos tripolares de anillos concéntricos aplicada de forma responsiva y preventiva:

1. Incrementará el número de estimulaciones necesarias para presentar una crisis convulsiva generalizada tónico-clónica.
2. Disminuirá la duración de la PD amigdalina durante el proceso de epileptogénesis inducida por KEA.
3. Disminuirá la frecuencia (severidad) de la PD amígdalina durante el proceso de epileptogénesis inducida por KEA.
4. Aumentará la permanencia en los estadios conductuales del KEA correspondientes a las crisis parciales.
5. Disminuirá la potencia espectral de la actividad EEG cortical y amigdalina durante la epileptogénesis comparando el período de línea base y el período postictal.



## **6.3. Objetivos**

### **6.3.1. Objetivo general**

Analizar el efecto de la EETF vía ETAC de forma responsiva y preventiva sobre la progresión de la epileptogénesis inducida a través del KEA en ratas macho adultas de la cepa Wistar.

### **6.3.2. Objetivos específicos**

Analizar el efecto de la EETF vía ETAC aplicada de forma responsiva y preventiva en los siguientes componentes:

1. Número de estimulaciones necesarias para la primera crisis convulsiva generalizada tónico-clónica.
2. La duración de la PD amigdalina durante la epileptogénesis inducida por KEA.
3. La frecuencia (espigas/segundo) de la PD amigdalina durante la epileptogénesis inducida por KEA.
4. La permanencia y evolución de en cada estadio conductual del KEA.
5. La potencia espectral de la actividad EEG cortical y amigdalina comparando los períodos de línea base y postictales de la estimulación por KEA en función de los estadios I, III y V.

---

# 7 MATERIALES Y MÉTODOS

## 7.1. Aparatos

Aparato estereotáxico David Kopf modelo 14  
Estación para soldar (Weller)  
Taladro estereotáxico (FOREDOM modelo 21b)  
Estimuladores GRASS S88 y S88X  
Unidades de aislamiento (GRASS PSIU6)  
Polígrafo GRASS 78D de 14 canales con amplificadores PK511  
Sistema de adquisición análogo-digital (ADQCH4) desarrollado en el laboratorio  
Puente de impedancias (Quadn Tech Inc 1750 LCR Digibrige)  
Puente de impedancias (OTTO-500)  
Videocámara (NIKON COOLPIX S4400 y PANASONIC HC-V10)  
Computadora DELL y HP ProDisplay P201 y paquetería de computo para análisis de datos (SPSS).  
Multímetro (PROAM)  
Osciloscopio Tektronix (TDS 3014B)  
Vibrátomo para cortes histológicos PELCO 101 Sectionary System

## 7.2. Materiales

Instrumental para cirugía  
Acrílico dental (Nic-Tone)  
Solvente (Nic-Tone)  
Cera de hueso  
Gelfoham (SPONGOSTAN Jhonson & Jhonson Medical)  
Electrodos epidurales en forma de clavo  
Electrodos tripolares de acero inoxidable  
Conectores *header* dobles rectos de 10 puntas  
Electrodos Tripolares de Anillo Concéntrico de Oro  
Tornillos de acero inoxidable  
Trenza de registro  
Báscula para roedores (OHAUS)

## 7.3. Sustancias

Antibiótico (Amoxivet SA)  
Relajante muscular (hidrocloruro de xilacina, Sigma 100mg/1ml)  
Anestésico disociativo (hidrocloruro de ketamina, Anesket 100mg/1ml)  
Pentobarbital sódico (PISABENTAL, Pisa)  
Solución isotónica de cloruro de sodio (DELMED, pisa)  
Paraformaldehído  
Antiséptico (Alcohol al 96%, yodo, jabón quirúrgico neutro ANTIBENZIL, agua oxigenada)  
Xilol

Xileno al 100%  
Entellan  
Buffer de Nissl (Violeta de cresilo)  
Buffer de fosfatos  
Alcohol al 100%, 75% y 50%  
Agua bidestilada (Mili Q)

## **7.4. Procedimientos experimentales**

### **7.4.1. Animales experimentales**

Para esta investigación fueron utilizadas 18 ratas macho adultas (de 3 a 4 meses) de la cepa Wistar con un peso de entre 300 g y 380 g, un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y temperatura constante de 23° C, alojadas en cajas de acrílico con comida y agua *ad libitum*. Estos animales fueron proporcionados por el bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Todos los procedimientos se llevaron a cabo bajo las especificaciones técnicas de la Norma Oficial Mexicana de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación NOM-062-ZOO-1999, para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio y con la aprobación del comité de ética del INPRFM.

### **7.4.2. Grupos y procedimientos experimentales**

Los roedores fueron divididos en tres grupos según el tratamiento al que serían sometidos como se ilustra en la figura 24. La descripción de los procedimientos se describirá a continuación:

1. Grupo control (n = 6): se le implantó un electrodo tripolar para el KEA, se estimuló diariamente hasta que presentara 3 CCGTC consecutivas.
2. Grupo de Estimulación Eléctrica Transcraneal Focal Responsiva (EETFR, n = 6): se le implantó un electrodo tripolar más un ETAC, se estimuló diariamente mediante el KEA hasta presentar el estadio II de la escala de Racine. A partir de ahí se aplicó el KEA diariamente y un segundo después la EETF hasta presentar 3 CCGTC consecutivas, con un máximo de 20 estímulos con EETF.

- Grupo de Estimulación Eléctrica Transcraneal Focal Preventiva (EETFP, n = 6): se le implantó un electrodo tripolar más un ETAC y se aplicó solamente la EETF durante 10 días previos a la estimulación por KEA. Al día siguiente se aplicó la EETF y un segundo después el KEA diariamente hasta presentar 3 CCGTC consecutivas, con un máximo de 20 estímulos con EETF.

Al finalizar el protocolo, a todos los animales se les realizó una prueba de susceptibilidad a las crisis y fueron eutanizados para la posterior verificación histológica del electrodo.

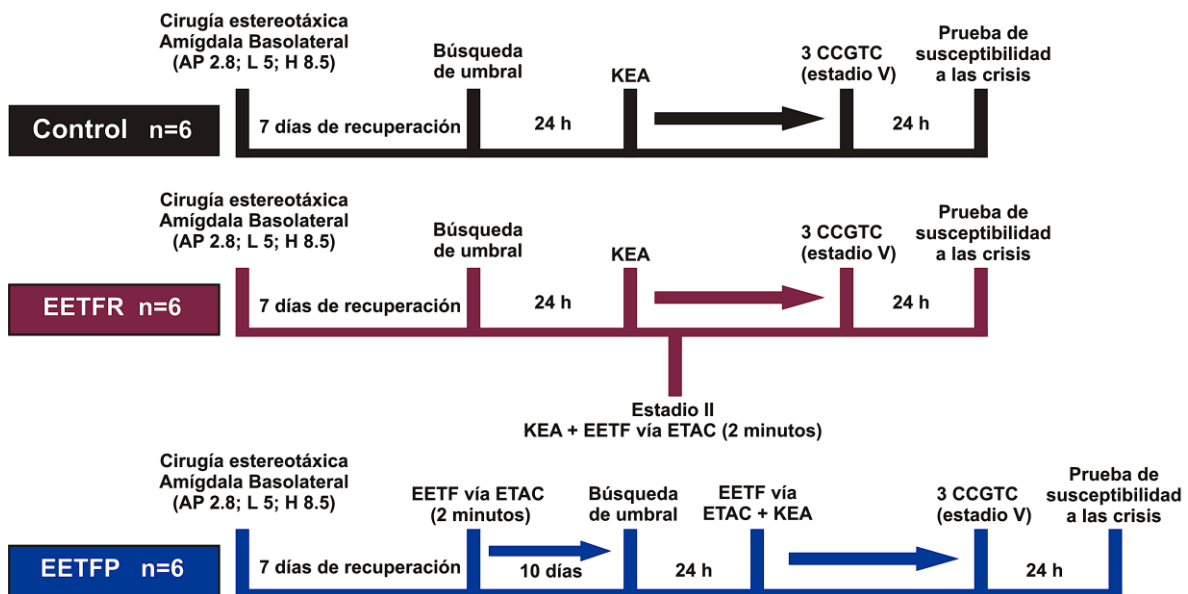


Figura 24. Esquema de procedimientos metodológicos.

Metodología para cada uno de los protocolos según el grupo. Abreviaturas: EETFR (estimulación eléctrica transcraneal focal responsiva), EETFP (estimulación eléctrica transcraneal focal preventiva), ETAC (electrodo tripolar de anillo concéntrico), KEA (*kindling* eléctrico amigdalino), CCGTC (crisis convulsiva generalizada tónico-clónica).

### 7.4.3. Implante de los electrodos

Todas las ratas fueron anestesiadas intramuscularmente con ketamina (100mg/kg) y xilacina (100mg/kg). Al grupo control se le implantaron electrodos en la amígdala del lóbulo temporal izquierdo (AM) con las siguientes coordenadas: AP (anterior-posterior): - 2.8, L (lateral): 5.0 y H (altura): - 8.5, de acuerdo al Atlas de Paxinos y Watson en 2007. También se colocaron dos electrodos epidurales de acero inoxidable en forma de clavo sobre la corteza prefrontal de manera bilateral (2mm anterior a Bregma), dos tornillos en el cráneo a nivel parietal contralaterales a la AM como referencias y 2 tornillos ipsilaterales, uno prefrontal y otro occipital. La preparación fue soldada a un conector header doble recto y se fijó al cráneo con acrílico dental.

Para los grupos EETF responsiva (EETFR) y preventiva (EETFP) se les realizó la misma preparación sólo que se le añadió un ETAC con un diámetro de 4 mm en el vértex. Al término de la cirugía los animales fueron puestos de manera individual en cajas de policarbonato transparentes (37.5 cm x 27 cm x 15 cm) para su recuperación por 7 días con agua y comida ad libitum.

## 7.4.4. Procedimientos de estimulación

### 7.4.4.1. Estimulación Eléctrica Transcraneal Focal

La EETF se aplicó con una corriente de pulsos cuadrados bifásicos durante 2 minutos a una frecuencia de 300 Hz, con una duración del pulso de 200  $\mu$ s e intervalo entre pulso de 100  $\mu$ s a una intensidad de corriente de 2 mA en la configuración bipolar concéntrica de cinta, como lo describe la figura 25.

Se hizo la medición de la impedancia entre los anillos del ETAC con un puente de impedancias, arrojando un intervalo que variaba entre los 900  $\Omega$  y 3.6 K $\Omega$ .

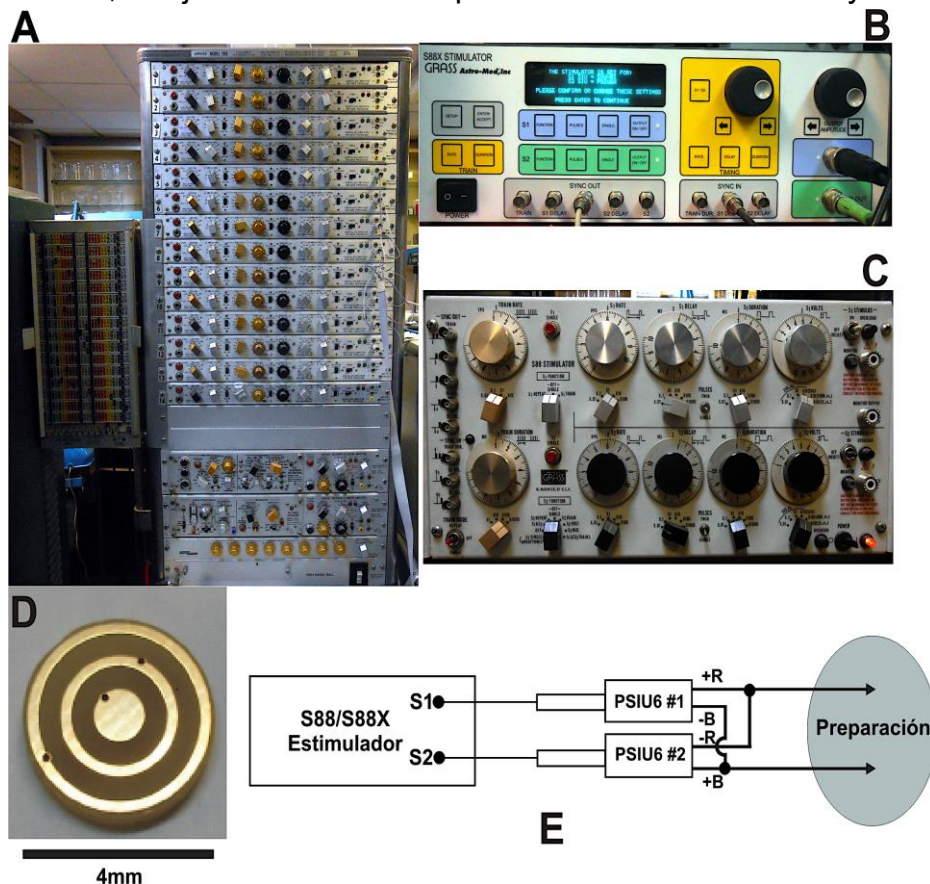


Figura 25. Sistema de registro y estimulación.

**A)** polígrafo GRASS 78D de 14 canales con amplificadores PK511 utilizado para obtener la señal analógica. **B)** y **C)** estimuladores GRASS S88X y S88 respectivamente, utilizados para la EETF y para el KEA. **D)** electrodo tripolar de anillo concéntrico (ETAC) con un diámetro de 4mm para inducir la EETF. **E)** conexión específica de las PSIU6 para inducir la EETF mediante estimulación bifásica, + y - corresponden a la polaridad de salida.

#### **7.4.4.2. Búsqueda de umbral de estimulación y KEA**

Una vez que los animales se recuperaron fueron determinados los umbrales de estimulación eléctrica para el KEA. Este procedimiento consta de aplicar un estímulo eléctrico con un tren de pulsos monofásicos con duración de 1 s, 1 ms de ancho de pulso a una frecuencia de 60 Hz a partir de una intensidad de corriente de 50  $\mu\text{A}$  cada 5 minutos, incrementando la intensidad en pasos de 50  $\mu\text{A}$  con un límite de 500  $\mu\text{A}$ , hasta que el animal presentara un guiño ipsilateral al sitio de estimulación (estadio I de la escala de Racine) y una breve PD con una duración mínima de 4 s. Determinado el umbral de activación, 24 h después se comienza con el protocolo de KEA, estimulando diariamente con los mismos parámetros hasta que el animal presente 3 CCGTC de manera consecutiva para establecer la corriente mínima para generar una nueva crisis de igual severidad. Paralelamente al *kindling* se analizan los cambios conductuales a través de la escala de Racine. La actividad EEG se registró 5 minutos previos a la estimulación (línea base), la duración de la PD y 5 minutos posteriores a la finalización de la crisis.

#### **7.4.5. Registro electroencefalográfico**

Los registros EEG se llevaron a cabo en una cámara de 51 cm x 27.5 cm x 30 cm. Mediante la utilización de un polígrafo GRASS 78D (figura 24, A), diariamente se registró, preamplificó y filtró (1 Hz – 300 Hz) los potenciales eléctricos de la actividad cerebral del animal. Las señales obtenidas fueron digitalizadas *on-line* (con una frecuencia de muestreo a 500 Hz) utilizando un sistema de adquisición analógica-digital (ADQCH4) diseñado en el Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (Fernández-Mas et al., 1998, Magdaleno-Madrigal et al., 2002; Valdés-Cruz et al., 2008). El registro y posterior análisis se extendieron hasta 5 minutos pre y post-ictales, pues las crisis pueden llegar a durar hasta 3 minutos.

En el grupo control se registraron 12 minutos de los cuales 5 minutos son de LB, un período variante de 0 a 2 minutos del KEA y su PD y 5 minutos finales de efectos post-ictales.

En los grupos que recibieron la EETF, los pertenecientes al grupo EETFR fueron registrados diariamente alrededor de 13 minutos distribuidos de la siguiente forma: una LB de 5 minutos, un período variante de 0-3 minutos donde se presentaban tanto el KEA como la EETF, y 5 minutos postestimulación.

Para el grupo EETFP se realizó un registro diario por 10 días de aproximadamente 12 minutos: 5 minutos de LB, 2 minutos de EETF y 5 minutos postestimulación. Al siguiente día se registraron después un total de 14 minutos: 5 minutos de LB, 2 minutos de EETF, un período variante de 0-2 minutos de la PD por KEA y 5 minutos postestimulación.

Los registros correspondientes a cada grupo se muestran en la figura 26. Las variables analizadas para los registros EEG fueron la duración y frecuencia de la PD correspondiente a la AM.

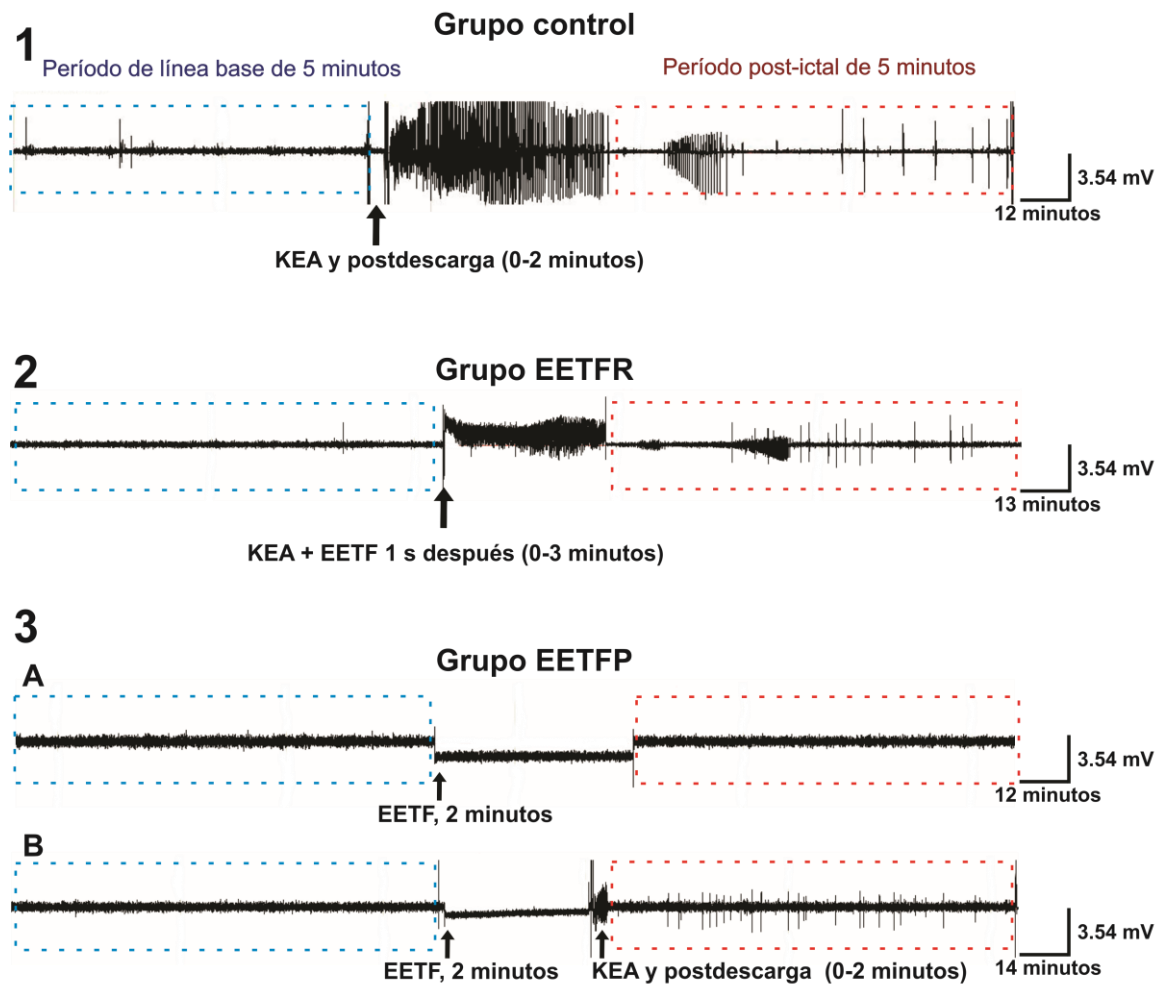


Figura 26. Registros EEG representativos de la AM.

Períodos de estimulación para cada uno de los grupos. En **1)** registro del grupo que sólo recibió *kindling*; en **2)** registro para EETF responsiva; en **3)** para **A)** registro correspondiente a los 10 días de EETFP y **B)** registro al aplicar EETFP por dos minutos y después el KEA. Obsérvese las caídas de voltaje en los registros durante la EETFR y EETFP y disminución en la frecuencia y amplitud de la post-descarga.



## 7.4.6. Análisis de la potencia espectral

El comportamiento de varios fenómenos fisiológicos puede ser descrito mediante una señal en el dominio del tiempo, es decir, cuya variable dependiente es el tiempo y la variable independiente es la amplitud, como lo es el EEG. El análisis de *Wavelets* es la primera aplicación práctica del análisis de datos obtenidos de registros neurofisiológicos, considerándose como una herramienta fundamental para comprender las dinámicas de los sistemas neuronales. Este procedimiento matemático permite el estudio de los complejos estructurales de una señal emitida por un sistema vivo, mediante el procesamiento digital de los componentes oscilatorios no estacionarios. La función de ondeleta o *Wavelets* es una onda de corta duración donde la energía es finita y se encuentra concentrada en el tiempo, siendo el análisis de señales no estacionarias su principal característica (Hramov, Koronovskii, Makarov, Pavlov & Sitnikova, 2015; Sánchez-Piña, 2016).

El primer análisis de la señal consiste en el espectro de potencia, el cual revela la ocurrencia de distintos componentes armónicos (variaciones de la señal senoidal que se acoplan en un rango de frecuencias, estructurando así un ciclo) sin proveer información relacionada a su localización en el tiempo. Se puede ejemplificar una señal como la suma de dos funciones armónicas con distintas frecuencias angulares representadas por  $\omega_1$  y  $\omega_2$ .

El espectro  $|S(\omega)|$  producido de ambas señales se caracteriza por dos picos de actividad de potencia que corresponden a ambas frecuencias que son prácticamente similares. El espectro es incapaz de proveer información acerca de las frecuencias que pueden ser diferenciadas y analizadas debido a que no se conoce si la señal es una superposición de dos funciones armónicas o si son dos componentes distintos en diferentes intervalos de tiempo. Si los componentes de frecuencia aparecen o desaparecen en esos intervalos con cambios sutiles, otra técnica es requerida. La transformada de Fourier es una poderosa herramienta para examinar series de tiempo con parámetros constantes, llevando a cabo la integración de toda la señal con un intervalo de tiempo integrado infinito, tal que el espectro queda:

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t)e^{i\omega t} dt$$

Cada uno de los componentes de frecuencia hace una contribución de su proporción con la del espectro completo, así se pueden detectar características rítmicas en la señal, no obstante, aún es imposible revelar su localización en el tiempo. Las funciones oscilatorias infinitas armónicas seno y cosenoidales no pueden ser aplicadas para localizarse en el análisis espectral.

Como consecuencia se deben replantear los componentes temporales pasando de la integración sobre un intervalo de tiempo infinito  $(-\infty, +\infty)$  a una integral definida en una ventana de tiempo con duración  $2T$  finita tal que  $[t_0 - T, t_0 + T]$  donde  $t_0$  es el tiempo en el cual se pueden localizar los componentes de una frecuencia definida en la señal y  $T$  la longitud de la ventana, quedando:

$$S(\omega, t_0) = \int_{t_0-T}^{t_0+T} x(t)e^{i\omega t} dt$$

Para evaluar las dinámicas de los componentes de frecuencia a través del tiempo se debe entonces limitar la observación a una ventana generando un espectro compacto dependiente de  $t_0$ . El espectro de potencia cambia conforme el movimiento de la observación en la ventana es movido a lo largo del eje  $x$  (tiempo) como se aprecia en la figura 27A. Siendo  $t_0$  la variable de partida, el espectro  $S(\omega, t_0)$  debe ser considerado como una función de dos dimensiones. A este tipo de análisis rectangular de la ventana se le llama transformada rápida de Fourier, usando este operador con la menor longitud  $2T$  de la observación se localiza la aparición o desaparición de los componentes de frecuencia con una señal mucho más precisa.

Para detectar la dinámica de tales componentes durante todo el intervalo de la ventana, una serie de transformaciones de la misma señal con distintos anchos  $2T$  de la observación, consideran al espectro  $S(\omega, t_0, T)$  dependiente de tres variables en vez de dos, por lo que la representación en el espacio necesita de al menos cuatro dimensiones. Con el fin de reducir el número de variables se puede relacionar la frecuencia  $\omega$  del armónico con la longitud de la observación  $T$ , así para cada valor de  $T$  se puede usar  $\omega = \omega_n = 2\pi n/T$ , donde  $n \in \mathbb{N}$  (número de períodos que llenan los espacios faltantes en la longitud de la ventana), así la transformada rápida de Fourier queda:

$$S(T, t_0) = \int_{t_0-T}^{t_0+T} x(t) \exp\left(-i \frac{2\pi n}{T} t\right) dt, \quad n > 0$$

Por último, en el espacio tridimensional  $(\omega, t_0, T)$ , donde la función  $S(\omega, t_0, T)$  es definida, la superficie  $\sigma$  es introducida, tal consideración suplementaria es construida a través de los puntos en la superficie como en la figura 27B, quedando la medición en 4 dimensiones (Hramov, Koronovskii, Makarov, Pavlov & Sitnikova, 2015). Así el análisis brinda información sobre los componentes de frecuencia en su magnitud, su localización en el tiempo a un punto dado y en todo el segmento de la ventana.

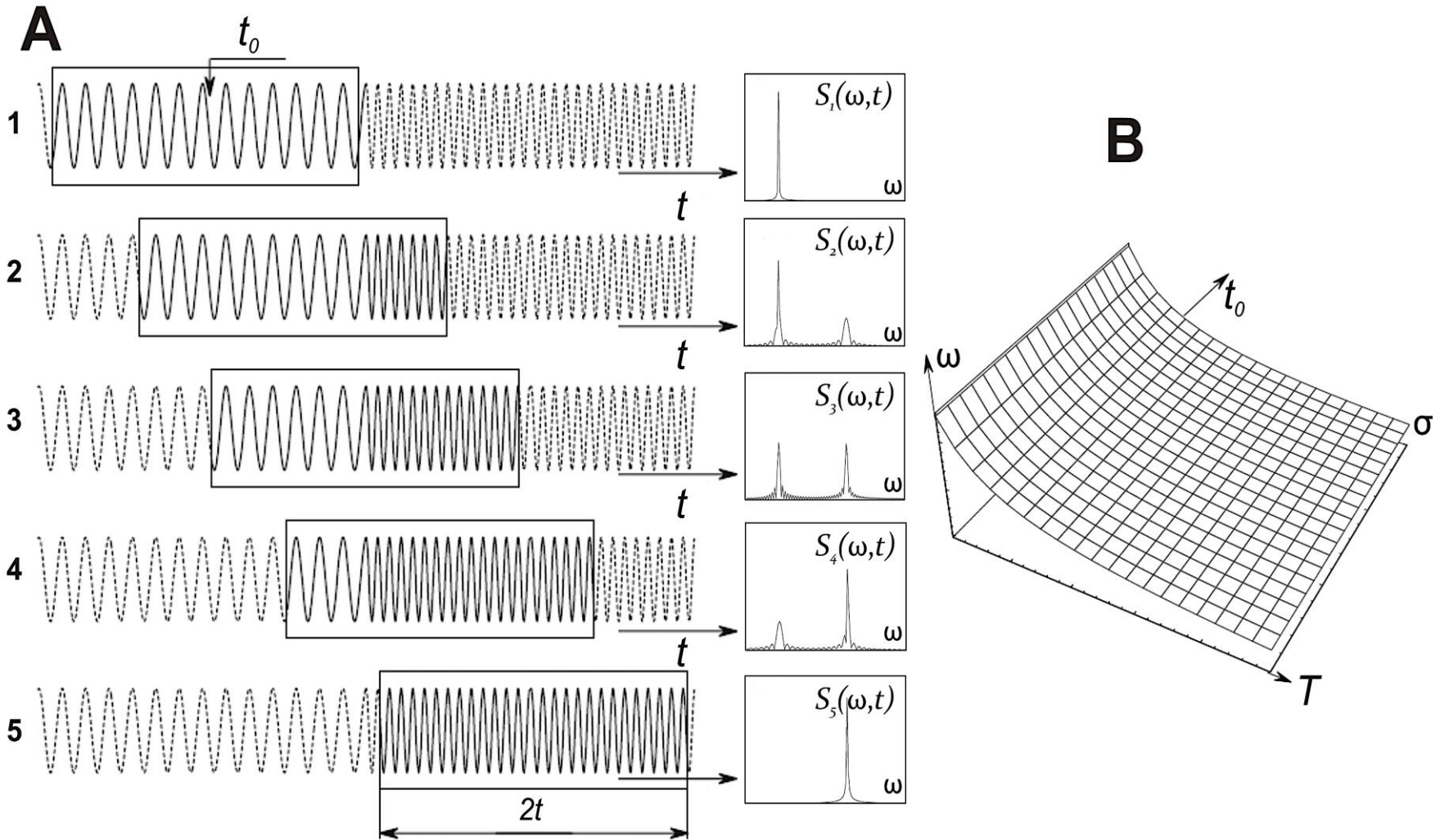


Figura 27. Análisis de la transformada rápida de Fourier.

En **A**) obsérvese las variaciones en la oscilación y en los espectros de potencia conforme la medición  $t_0$  es aplicada a lo largo del eje tiempo hasta completar la ventana  $2t$  establecida, obsérvese también como el componente de frecuencia y el período en la dinámica oscilante modifican la intensidad del espectro. En **B**) para la medición de potencia absoluta se considera al espectro  $S$  en función de  $(\omega, t_0, T)$  generándose un valor  $\sigma$  que incluye las 4 dimensiones (frecuencia, observación de la ventana, longitud de la ventana y valor de potencia). Modificado de Hramov, Koronovskii, Makarov, Pavlov & Sitnikova, 2015.

La aplicación de tales algoritmos matemáticos son empleados para el análisis digital de EEG, tomando en cuenta que la señal es una secuencia de valores discretos que representan la medición de potenciales eléctricos en función del tiempo. En suma, un método aplicable en el dominio del tiempo y la frecuencia es de utilidad para analizar variaciones no estacionarias en la composición espectral, caracterizando al EEG en un complejo tiempo-frecuencia. Emplear el método Wavelets permite entonces el estudio de fenómenos de sincronización en diferentes áreas del cerebro, varias de ellas operan de esa forma en condiciones normales (como procesos cognitivos) o patológicas (como la epilepsia). Las descargas epileptiformes presentan períodos de sincronización no estacionarios en distintos rangos de frecuencia, las cuales varían en su intensidad dependiendo de la actividad convulsiva, por lo que este análisis puede ser aplicado para evaluar los efectos de tratamientos de neuromodulación eléctrica como la EETF vía ETAC, que interfieren y alteran estos patrones oscilantes.

Para analizar los cambios transitorios de la actividad post-ictal debido a la aplicación de EETF se llevó a cabo un análisis *off-line* de la potencia espectral utilizando el método de *Wavelets*, eligiendo un registro EEG de los estadios conductuales I, III y V según los criterios de la escala de Racine, los que corresponden a las crisis parciales, crisis generalizadas y CCGTC respectivamente. En cada uno de esos registros se tomaron ventanas de tiempo de 5 minutos de los períodos de LB y postestimulación y se filtraron en las bandas de frecuencia de 0-4 Hz, 5-7 Hz, 8-14 Hz y de 15-30 Hz. El espectro de potencia fue calculado para ambas cortezas y la AM mediante la generación de un arreglo espectral compacto que distribuye gráficamente la actividad de la potencia espectral en el dominio del tiempo durante los 5 minutos. Posteriormente los valores numéricos de potencia correspondientes a cada una de las bandas de frecuencia y de cada condición fueron normalizados utilizando la unidad tipificada (normalización Z) para cada conjunto de datos, permitiéndonos tener una centralización (sustraer la media a cada uno de los valores que la componen) y una reducción (cociente de todos valores centralizados por su desviación estándar) de cada una de las mediciones, con lo cual los datos son independientes de la escala de medición y tienen una misma media y dispersión.

Esta definición está dada por la fórmula muestral:

$$z = \frac{x_i - \bar{x}}{s}$$

Donde  $z$  es el valor de la unidad tipificada o normalizada,  $x_i$  el valor derivado de la muestra de datos,  $\bar{x}$  la media muestral y  $s$  el valor de desviación estándar, esos valores fueron promediados para cada banda de frecuencia en épocas de 1 minuto.

#### **7.4.7. Registro conductual**

El registro conductual se llevó a cabo utilizando una videocámara y se analizó *off-line* de acuerdo a la clasificación propuesta por Racine en 1972: estadio I que presenta movimientos faciales (guiño ipsilateral al sitio de estimulación), estadio II con movimientos oro-faciales y de cabeceo (masticación y *nodding*), estadio III que presenta mioclonias de las miembros anteriores, estadio IV donde hay un levantamiento del tren anterior (*rearing* o posición de canguro) para así culminar en el estadio V que presenta al *rearing*, una pérdida de postura y la caída del animal.

#### **7.4.8. Análisis histológico**

Al finalizar el protocolo experimental, los animales fueron anestesiados con una sobredosis intraperitoneal de pentobarbital sódico para evitar dolor durante los procedimientos de perfusión. Con el fin de retirar el flujo sanguíneo del tejido cerebral se realizó una perfusión vía cardiaca con *buffer* de fosfatos y formaldehído al 10% a través del ventrículo izquierdo. Una vez terminado esto el cerebro fue extirpado para sumergirlo en formaldehído al 10% por al menos 24 h.

Utilizando un vibratomo, se procedió a obtener cortes histológicos coronales seriados de aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  de la sección que contenía la trayectoria del electrodo y posteriormente se montaron en portaobjetos gelatinados. Para incrementar el contraste de las estructuras analizadas se utilizó la técnica de tinción de Nissl, sumergiendo los portaobjetos en una solución de xileno 100%, alcohol a diferentes concentraciones (100%, 75% y 50%) y en buffer de Nissl. Por último, los cortes fueron digitalizados para verificar que el sitio de registro y estimulación fuera la AM.

#### **7.4.9. Análisis estadístico**

Las pruebas estadísticas que se utilizaron fueron: un ANOVA de un factor (comparación de permanencia en cada estadio conductual, duración y frecuencia de la PD entre grupos y comparación de número de estimulaciones para presentar la primera CCGTC entre grupos) con una prueba de rango *post hoc* de Bonferroni para las comparaciones múltiples inter-sujeto (diferencias significativas con una  $p < 0.05$ ). La prueba de rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas (comparar diferencias de los umbrales iniciales tomado como 100% para cada uno de los

grupos, con el umbral para las crisis parciales y las CCGTC) (diferencias significativas con una  $p < 0.05$ ).

Para los datos de potencia espectral se utilizó el modelo lineal general de ANOVA de 2 factores con interacción, donde cada puntuación se describe por la expresión lineal  $\gamma_{ijk} = \mu_{\tau} + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$ , donde  $\mu_{\tau}$  es la media global de la población,  $\alpha_i$  el promedio del efecto del tratamiento en el factor grupo (Control, EETFR, EEFTP),  $\beta_j$  el promedio del efecto del tratamiento en el factor condición (línea base y período postictal),  $(\alpha\beta)_{ij}$  el efecto de la interacción entre factores, y  $\varepsilon_{ijk}$  el error experimental asociado a cada puntaje.

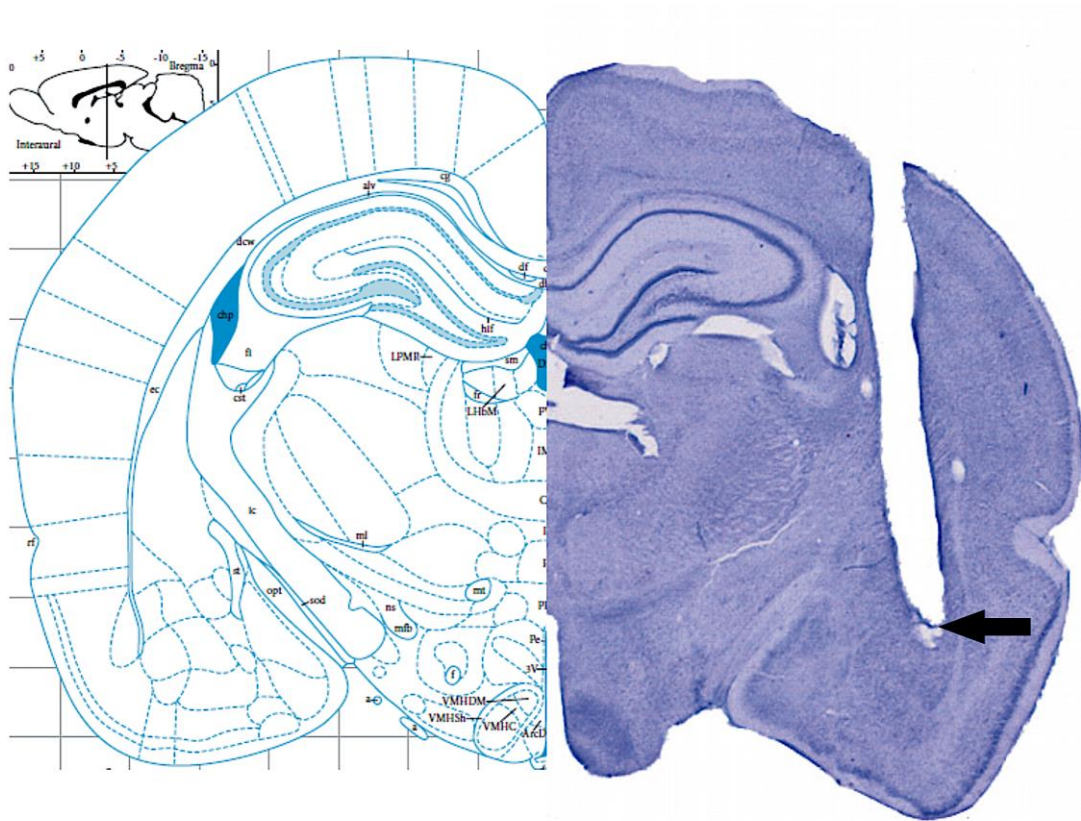
Los tratamientos experimentales pueden presentar efectos debido a la práctica (efecto durante el transcurso de la medición) y efectos de arrastre (efecto diferencial en todas las condiciones dependientes del efecto acumulado) por lo que se optó por realizar un modelo de 2 factores con medidas repetidas, teniendo como factores inter-sujetos el grupo experimental y como factor intra-sujeto la condición, con la variable tiempo como medida repetida para cada una de las bandas de frecuencia (0-4 Hz, 5-7 Hz, 8-14 Hz, 15-30 Hz) y para cada estadio conductual (I,III,V). El criterio de rechazo a la hipótesis nula se basó en la prueba de homogeneidad de varianzas  $W$  de Mauchly con una  $W < 0.05$ . Los datos se expresaron como media  $\pm$  error estándar de la media y las diferencias se consideraron significativas para  $p < 0.05$  según la tendencia polinómica de los datos (lineal, cuadrática, cúbica o de orden 4). Los análisis se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics versión 21.0 para Windows.

---

# 8 RESULTADOS

## 8.1. Verificación histológica

El análisis histológico realizado muestra que los electrodos tripolares para la estimulación y registro electroencefalográfico se situaron dentro de la amígdala, la trayectoria unilateral se puede observar en la figura 28. Aquellos animales con trayectorias distintas fueron descartados para el análisis de datos.



**Figura 28. Histología para verificación de trayectoria del electrodo.**

Corte coronal (100  $\mu\text{m}$  de grosor) representativo, teñido con la técnica de nissl. Comparación del corte con la trayectoria del electrodo (derecha) y el corte del atlas histológico de Paxinos & Watson en 2007 (izquierda). la flecha negra indica el sitio de registro y estimulación en la AM de la porción basolateral del lóbulo temporal izquierdo.



## 8.2. Estimulaciones necesarias para presentar la primera crisis convulsiva generalizada tónico-clónica

El promedio de estimulaciones en la AM para presentar la primera crisis convulsiva generalizada es de aproximadamente 15, por tanto, al probar la EETF es de esperarse que el promedio incremente en los animales tratados. Como se puede observar en la figura 29, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los grupos que recibieron EETF en comparación con el grupo control, no obstante, es posible observar un claro retardo en la epileptogénesis para el grupo de animales que recibieron la EETFP, observando una menor duración en sus crisis y la imposibilidad de presentar las 3 CCGTC de manera consecutiva.

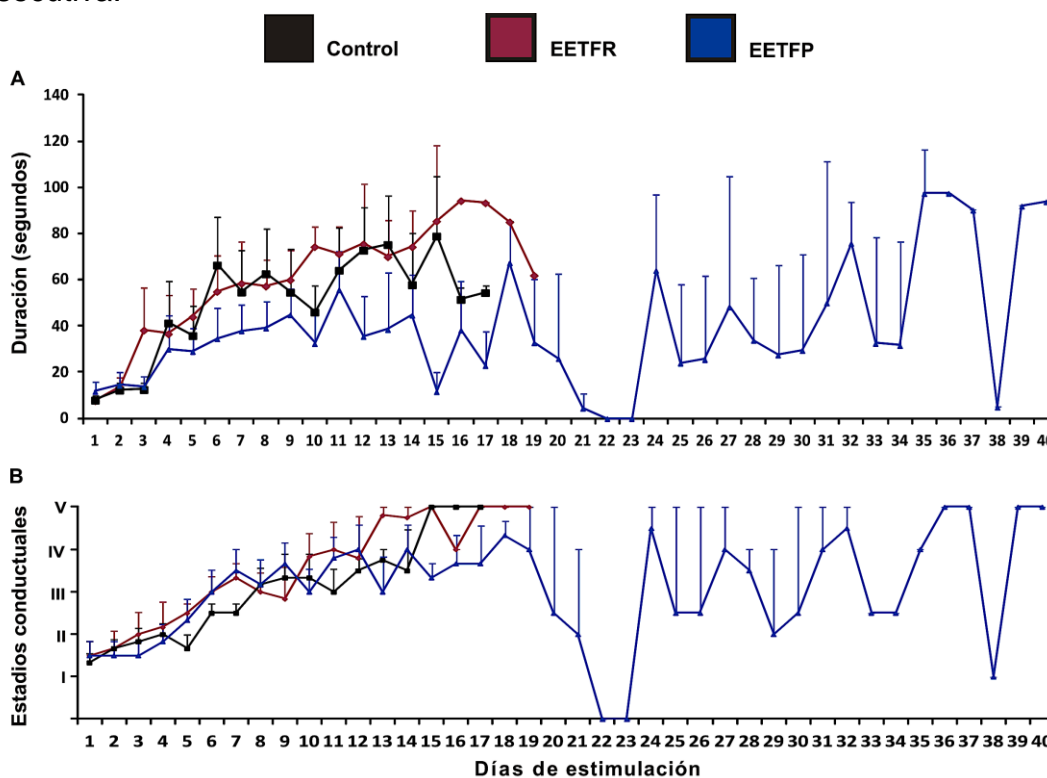


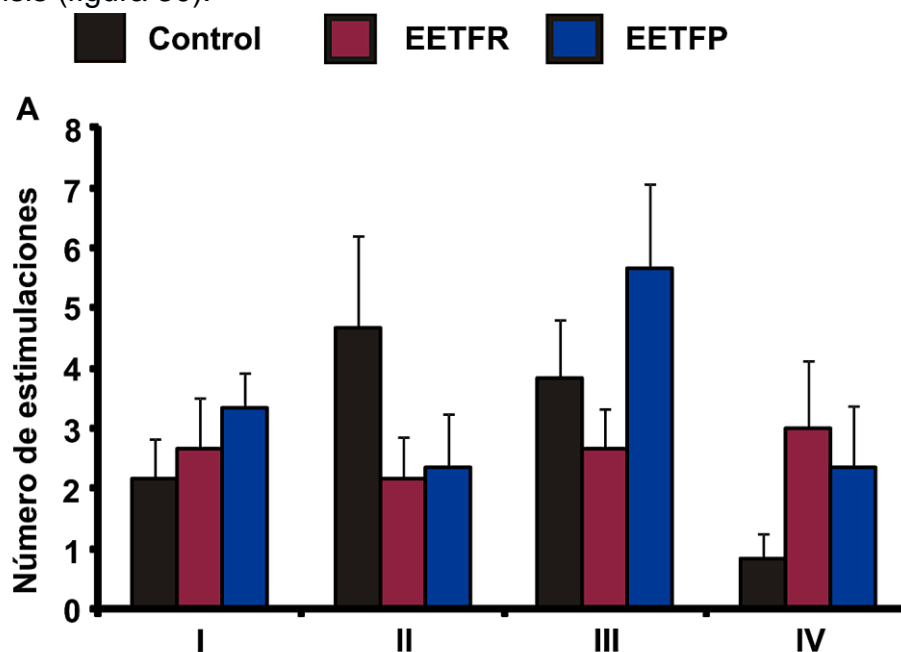
Figura 29. Distribución poligonal de la evolución de la epileptogénesis a través de los días.

Midiendo en **A)** la duración de la PD en segundos a través de los días, y en **B)** el desarrollo de los estadios conductuales. Nótese que el grupo EETFP presenta una menor duración de la PD y requiere más días de estimulación para presentar 3 CCGTC. ANOVA de un factor, gráficas  $\pm$  error estándar de la media.

## 8.3. Desarrollo de la epileptogénesis: permanencia, duración y frecuencia

Con el fin de evaluar el proceso de generalización de las crisis convulsivas, se hizo un análisis del número de estimulaciones que se requirieron para provocar un cambio en el patrón de generalización y con ello desarrollar un estadio conductual

de mayor severidad, según la escala de Racine. No se mostraron diferencias significativas entre grupos, sin embargo, es posible notar que el grupo control tiene una menor permanencia al llegar al estadio IV (crisis generalizadas) lo que indicaría una facilitación para presentar posteriormente una CCGTC. También se observa el incremento de permanencia en el estadio III (crisis generalizadas) en el grupo EETFP, lo que indicaría un posible efecto protector contra la generalización de las crisis (figura 30).



**Figura 30. Permanencia durante la epileptogénesis.**

Histograma que presenta el número de estimulaciones aplicadas en cada estadio conductual según la escala de racine durante la epileptogénesis. Nótese la disminución de permanencia en el estadio IV del grupo control y el incremento en el estadio III del grupo EETFP. El grupo EETFR permaneció constante en sus valores. ANOVA de un factor, gráficas  $\pm$  error estándar de la media.

Debido a que cada estadio conductual está asociado a un grado de severidad en las crisis convulsivas, es de importancia conocer la dinámica de las variables duración y frecuencia, reflejadas en el registro EEG durante la PD.

A pesar de que no se observaron diferencias significativas, como se puede observar en la figura 31, el grupo EETFP presentó una menor duración de la PD mientras que el grupo que recibió EETFR tuvo una disminución de la severidad en las crisis al presentar menor frecuencia, ambos efectos producidos durante las crisis parciales (estadios I y II) y su transición hasta las crisis generalizadas (estadio III).

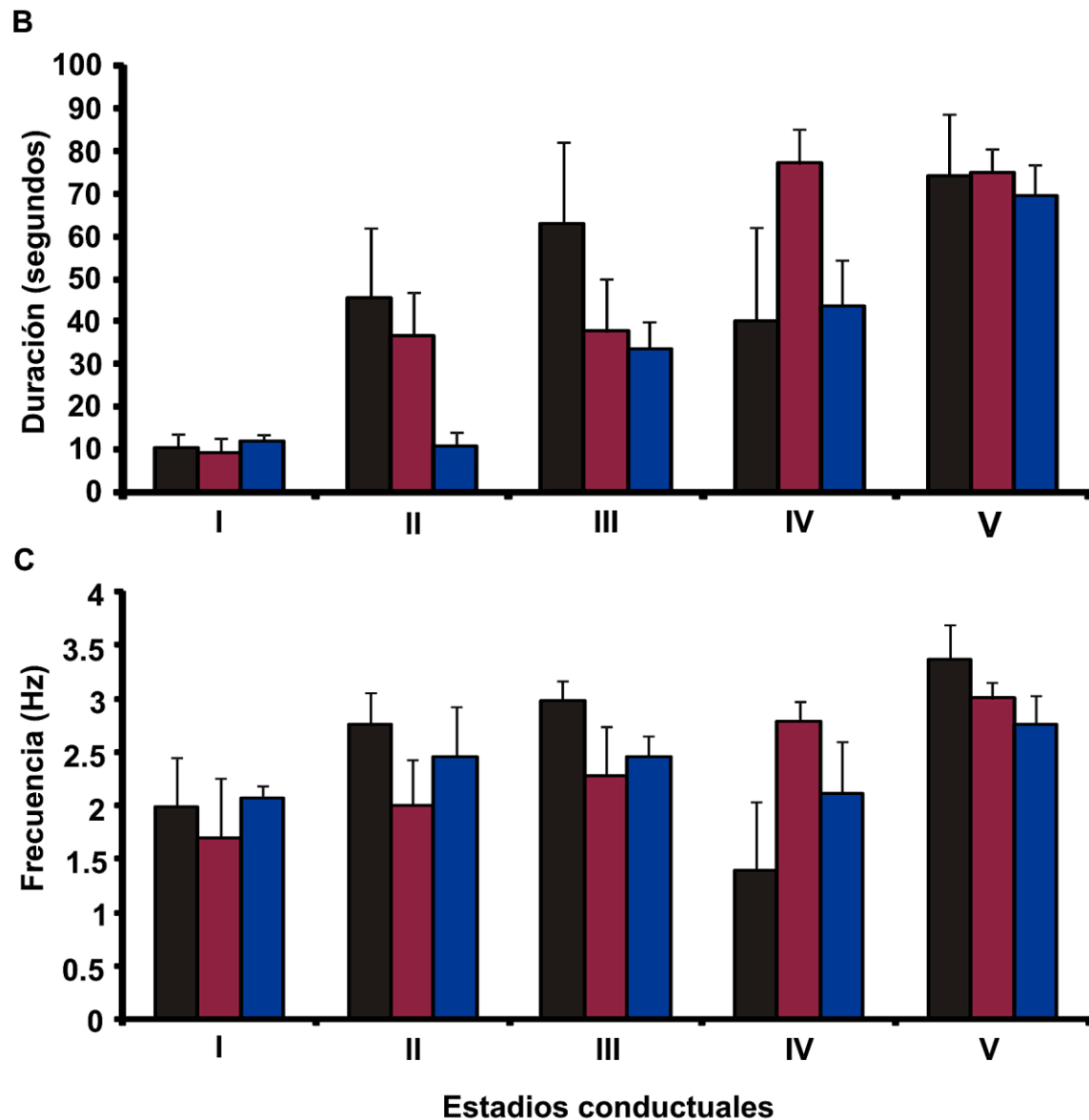


Figura 31. Duración y frecuencia de la PD.

Histogramas que presentan en **B)** promedio de la duración de la PD en segundos y en **C)** la frecuencia (espigas por segundo) medida en Hz en función del estadio conductual presentado. Obsérvese como el grupo EETFP muestra una menor duración de la PD mientras que el grupo EETFR presenta una menor frecuencia de espigas, ambos efectos durante las crisis parciales (estadio I y II) y la transición a crisis generalizadas (estadio III). ANOVA de un factor, gráficas  $\pm$  error estándar de la media.

#### 8.4. Sensibilización por KEA: prueba de susceptibilidad a las crisis parciales y crisis generalizadas

Después del protocolo de estimulación por KEA existe una sensibilización del cerebro para que una crisis pueda ser evocada, por lo cual es necesaria una

prueba que mida que tan sensible se ha vuelto el tejido para generar una PD y su posterior generalización. La prueba de susceptibilidad nos indica si el animal se ha vuelto más sensible comparando la cantidad de corriente inicial para estimular que fue determinada en la búsqueda de umbral, con la corriente necesaria para provocar una crisis parcial y una CCGTC, así el valor de corriente inicial adquiere una proporción de 100%. La figura 32 muestra como los animales tratados con EETFR y EETFP no muestran un incremento de corriente para provocar una crisis parcial, teniendo su efecto protector en la evocación de una CCGTC al incrementar el porcentaje de corriente.

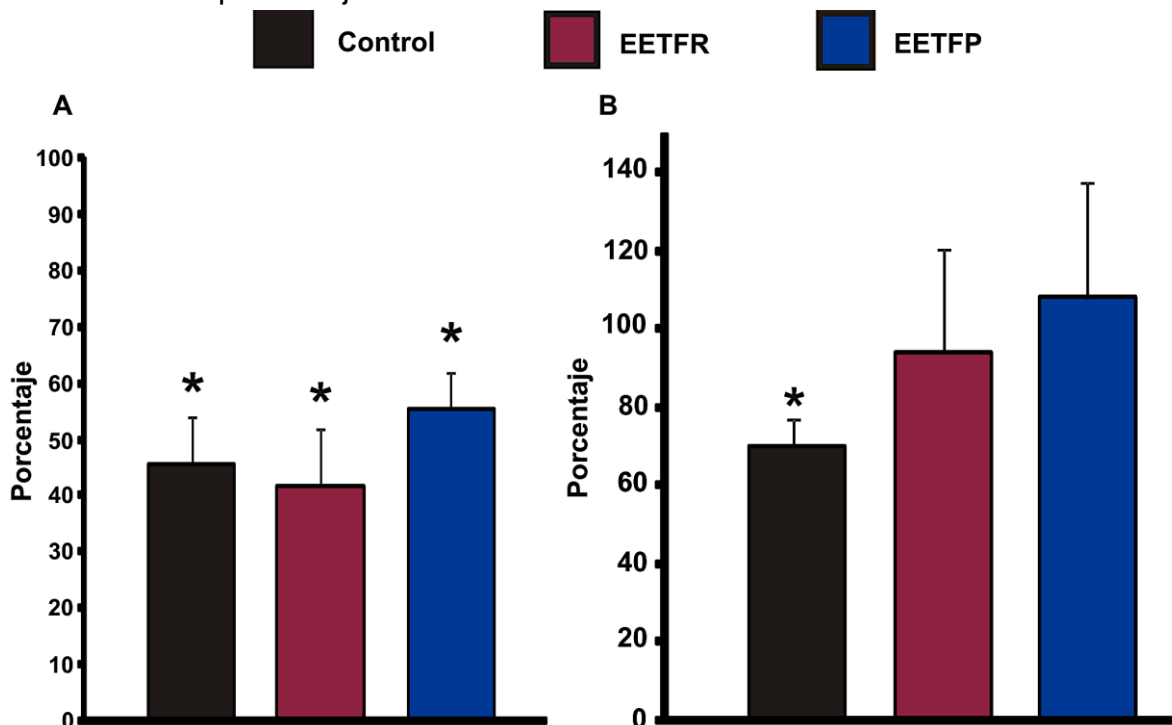
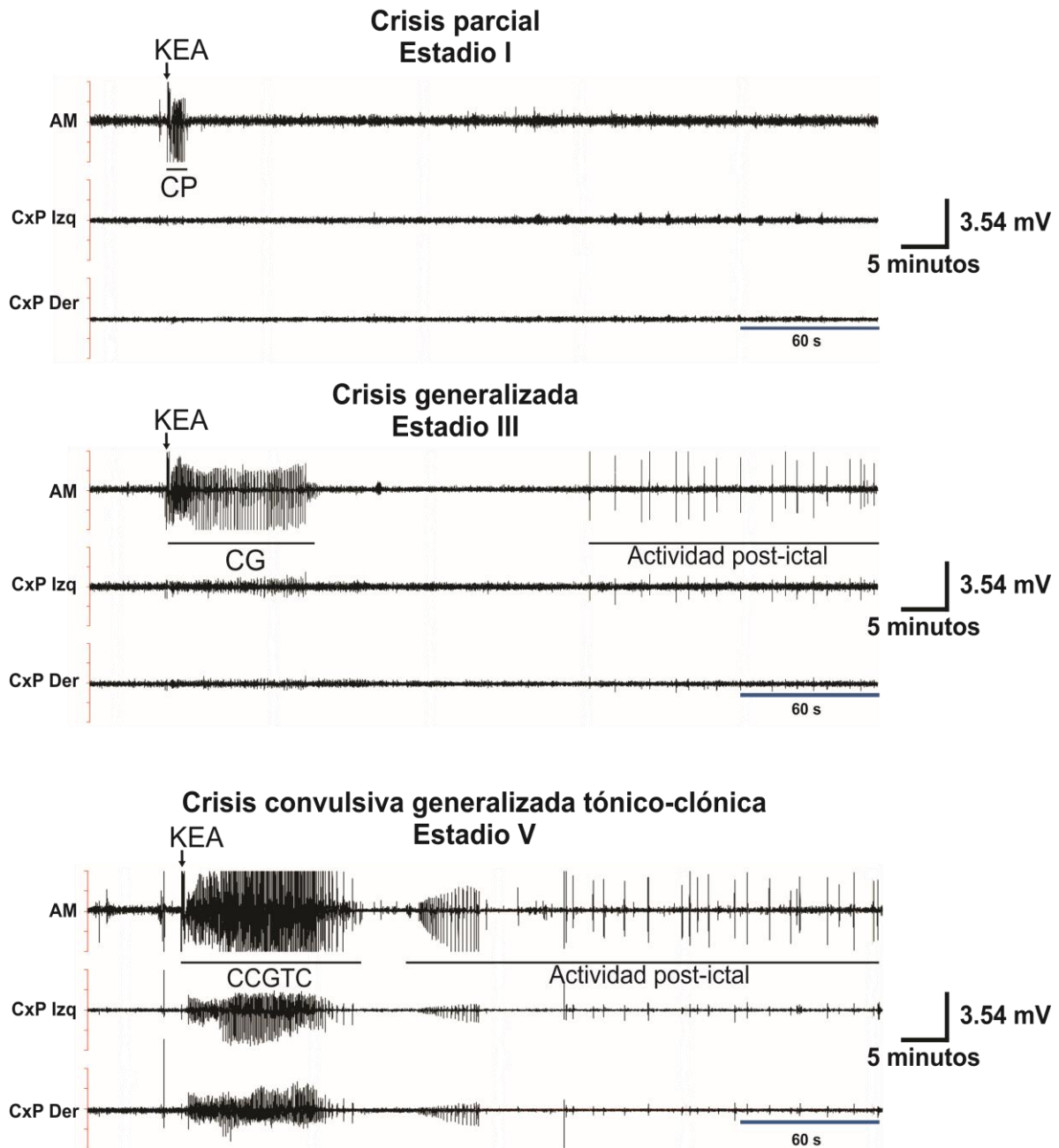


Figura 32. Prueba de susceptibilidad a las crisis.

En **A)** porcentaje de corriente necesario para provocar una crisis parcial y **B)** porcentaje de corriente necesario para provocar una CCGTC, ambos valores comparados contra el umbral inicial. Nótese que los grupos que recibieron EETF ya sea responsiva o preventiva, requirieron de mayor corriente para provocar una CCGTC (comparación de grupos en condiciones antes-después; diferencias significativas con \*  $p < 0.05$ . Gráficas  $\pm$  error estándar de la media).

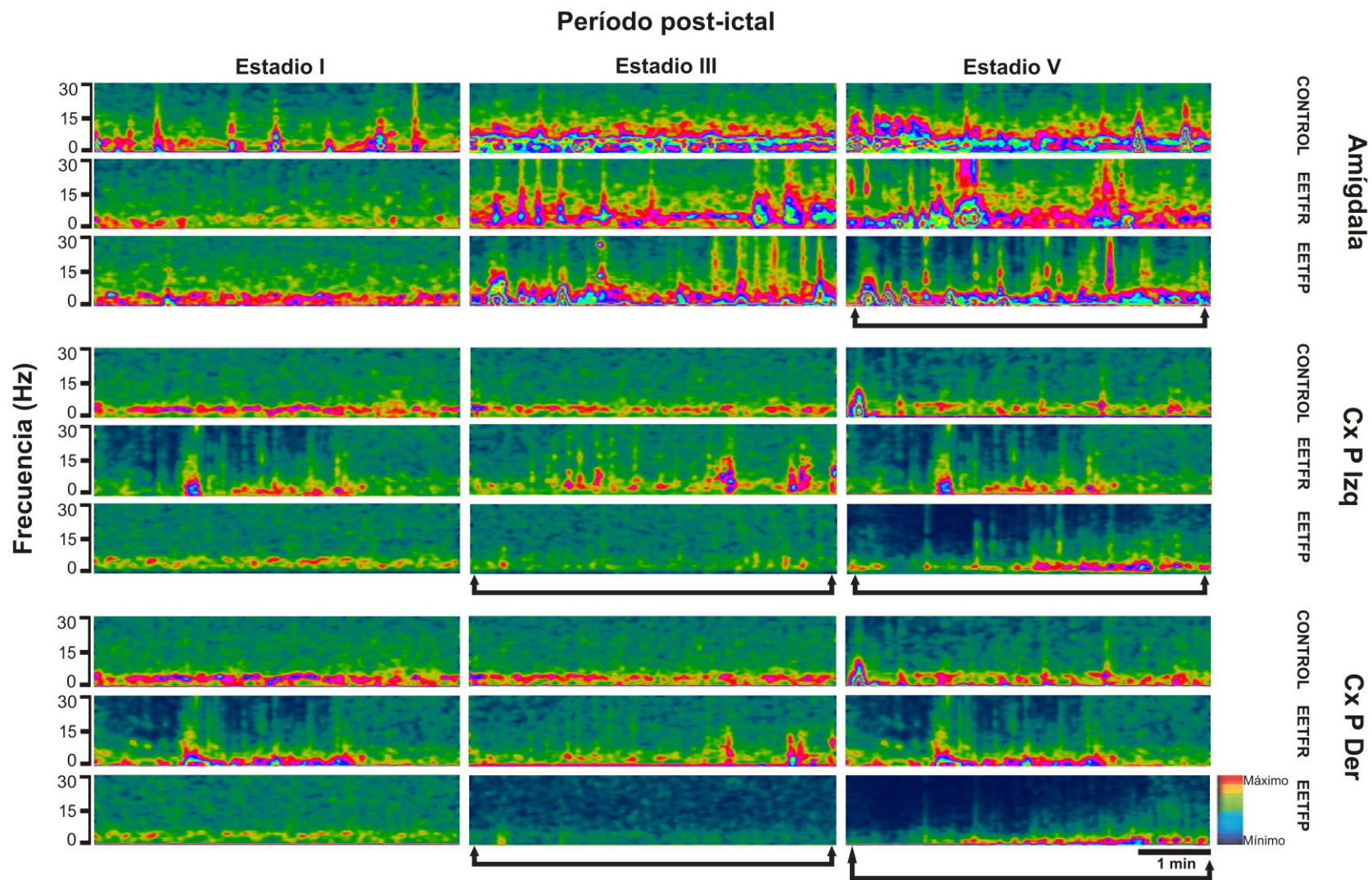
## 8.5. Variaciones en la potencia espectral

Para realizar un análisis que presentara los cambios durante la evolución de la epileptogénesis se hizo una agrupación de los registros EEG de acuerdo a los estadios I, III y V así se evalúan las variaciones en las crisis parciales, crisis generalizadas y las CCGTC. Cada uno de estos estadios conductuales presenta diferencias dramáticas no solo conductualmente, electrográficamente se da un incremento gradual de la duración y frecuencia en la PD además de manifestarse actividad post-ictal como se observa en la figura 33.



**Figura 33. Trazos EEG representativos de cada estadio conductual analizado.**

Arriba, registro correspondiente al estadio I o crisis parcial. Centro, registro del estadio III o crisis generalizada. Abajo, registro de un estadio V o CCGTC. Se pueden notar los cambios graduales en duración y frecuencia además de presentarse un incremento de la actividad post-ictal en los estadios donde se han generalizado las crisis. KEA, *kindling* eléctrico amígdalino; CP, crisis parcial; CG, crisis generalizada; CCGTC, crisis convulsiva generalizada tónico-clónica; AM, amígdala; Cx P Izq, corteza prefrontal izquierda; Cx P Der, corteza prefrontal derecha.



**Figura 34. Espectrogramas representativos de potencia.**

Espectros (0-30 Hz) de los tres grupos durante el período post-ictal del registro EEG de la AM basolateral y ambas cortezas prefrontales en los estadios conductuales correspondientes a crisis parciales (estadio I), transición a crisis generalizadas (estadio III) y CCGTC (estadio V). Los valores máximos en colores cálidos indica una mayor potencia mientras que los valores mínimos en colores fríos indican menor potencia. Nótese las variaciones de la potencia en las frecuencias de 1-15 Hz de la AM, corteza prefrontal izquierda y derecha en los estadios III y V (indicado en las flechas negras) que presentan menor densidad en los grupos a los que se les aplicó EETF, disminución que es más notable en el grupo EETFP.

Para poder analizar las variaciones senoidales en los trazos EEG se generaron espectrogramas de potencia por cada uno de ellos en la banda de 0-30 Hz. La evaluación cualitativa de los espectros de potencia mostró variaciones en la potencia en las frecuencias de 1-15 Hz de la corteza prefrontal izquierda y derecha con una disminución de la actividad en el grupo EETFR en comparación con el control, no obstante, esta reducción en el espectro es más notable para los animales con EETFP, manteniéndose en los 5 minutos posteriores a la PD como se muestra en la figura 34.

Cabe destacar también que en el grupo EETFP se muestra una gran disminución de potencia en la evolución temprana de la epileptogénesis (estadio I) en ambas cortezas para las frecuencias de 1-10 Hz. Respecto a la AM los cambios fueron observados durante los períodos de generalización de las crisis (específicamente en el estadio V) donde hubo una reducción de la potencia en el grupo EETFP, y en la evolución temprana con una marcada reducción de potencia para el grupo de EETFR. El análisis cuantitativo de la potencia fue dividido en bandas de frecuencia específicas, comparando el período de LB con la post-estimulación y para cada estadio conductual en la AM y ambas cortezas.

### **8.5.1. Dinámica de la potencia espectral en la amígdala**

Variaciones en el estadio I: se observa una disminución de la potencia en el grupo EETFP durante el período post-ictal en la banda de 0-4 Hz ( $p = 0.035$ ), mientras que en la banda de 15-30 ( $p = 0.019$ ,  $p = 0.030$ ) Hz se presenta una disminución de los grupos EETFP y EETFR (véase figura 35, EST I, 0-4 Hz, 15-30 Hz).

Variaciones en el estadio III: la EETFP exhibió una reducción significativa de la potencia espectral en todas las bandas de frecuencia, siendo más notable en las bandas de 8-14 Hz ( $p = 0.06$ ,  $p = 0.032$ ) y 15-30 Hz ( $p = 0.018$ ,  $p = 0.002$ ) en comparación con el grupo control y el grupo EETFR (véase figura 35, EST III).

Variaciones en el estadio V: la reducción del poder espectral es significativa para la EETFP y EETFR en comparación con el control, específicamente al inicio de actividad paroxística y en su terminación durante el período post-ictal en las bandas de 0-4 Hz ( $p = 0.010$ ,  $p = 0.033$ ), 8-14 Hz ( $p = 0.013$ ,  $p = 0.015$ ) y 15-30 Hz ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.03$ ) (véase figura 35, EST V).

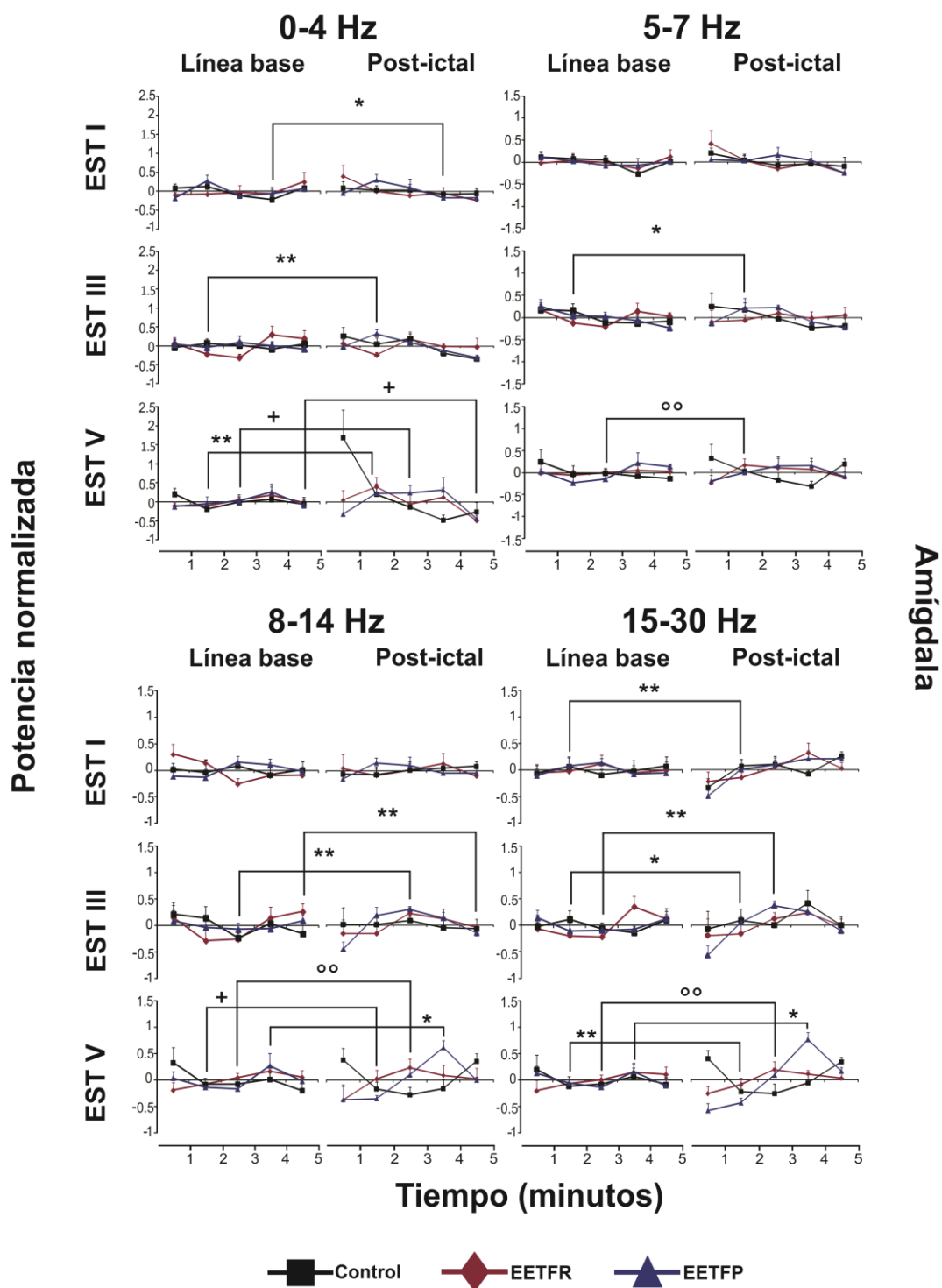


Figura 35. Variaciones de la potencia espectral en la AM con tratamiento por EETF.

Valores de potencia normalizada ( $Z = ((x_i - \bar{x})/s)$ ) correspondientes a las bandas de frecuencia de 0-4 Hz, 5-7 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz, comparando el período de línea base con el período post-ictal de la PD amigdalina en los estadios conductuales I, III y V del KEA. Nótese los cambios en la potencia para los estadios III y V, con una disminución constante para el grupo EETFP en las bandas de 8-14 Hz y 15-30 Hz. El grupo de EETFR ejerció su mayor efecto durante el estadio V en las bandas de 0-4 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz. Diferencias estadísticas en \*  $p < 0.05$ , tiempo; \*\*  $p < 0.05$ , tiempo-condición; +  $p < 0.05$ , tiempo-grupo; °  $p < 0.05$ , condición grupo; °°  $p < 0.05$ , tiempo-condición-grupo. Gráficas  $\pm$  error estándar de la media.



A manera de síntesis se puede observar que la EETFP tiene un efecto protector contra las crisis ipsilaterales en la AM, disminuyendo la potencia espectral en los estadios tempranos de la epileptogénesis en la banda de 0-4 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz. La EETFR ejerce su efecto contra las crisis presentando una notable disminución de la potencia en los estadios de mayor severidad en la banda de 8-14 Hz y 15-30 Hz.

### **8.5.2. Dinámica de la potencia espectral en la corteza prefrontal izquierda**

Variaciones en el estadio I: la EETFP disminuye la potencia en las bandas de mayor frecuencia, específicamente de 8-14 Hz ( $p = 0.035$ ) y 15-30 Hz ( $p = 0.003$ ,  $p = 0.005$ ) en la transición del período post-ictal, comparándose contra el control (véase figura 36, EST I, 8-14 Hz, 15-30 Hz).

Variaciones en el estadio III: la EETFP ejerce su mayor efecto al reducir significativamente la potencia en las bandas de 0-4 Hz ( $p = 0.001$ ), 8-14 Hz ( $p = 0.04$ ) y 15-30 Hz ( $p = 0.012$ ) en los períodos finales de la actividad post-ictal comparándose con el control y el grupo EETFR (véase figura 36, EST III, 0-4 Hz, 8-14 Hz, 15-30 Hz).

Variaciones en el estadio V: se observa una disminución de la potencia espectral en el grupo de EETFR en la transición de la actividad post-ictal que es más notable hacia la culminación de ese período en todas las bandas de frecuencia. La EETFP presenta un comportamiento parecido con marcadas disminuciones durante el comienzo y terminación de la actividad post-ictal. Efectos comparados contra el grupo control (0-4 Hz,  $p = 0.031$ ,  $p = 0.047$ ; 5-7 Hz,  $p = 0.005$ ; 8-14 Hz,  $p = 0.02$ ,  $p = 0.036$ ; 15-30 Hz, 0.017) (véase figura 36, EST V).

Los cambios en la Cx P Izq se resumen en que la EETFP tiene un efecto protector contra la generalización de las crisis de forma ipsilateral al disminuir la potencia en todas las bandas, siendo más notable en la banda de 8-14 Hz y 15-30 Hz en los estadios tempranos de la epileptogénesis que corresponden a crisis parciales, mientras que la EETFR ejerce su efecto en los estadios finales disminuyendo la potencia en todas las bandas.

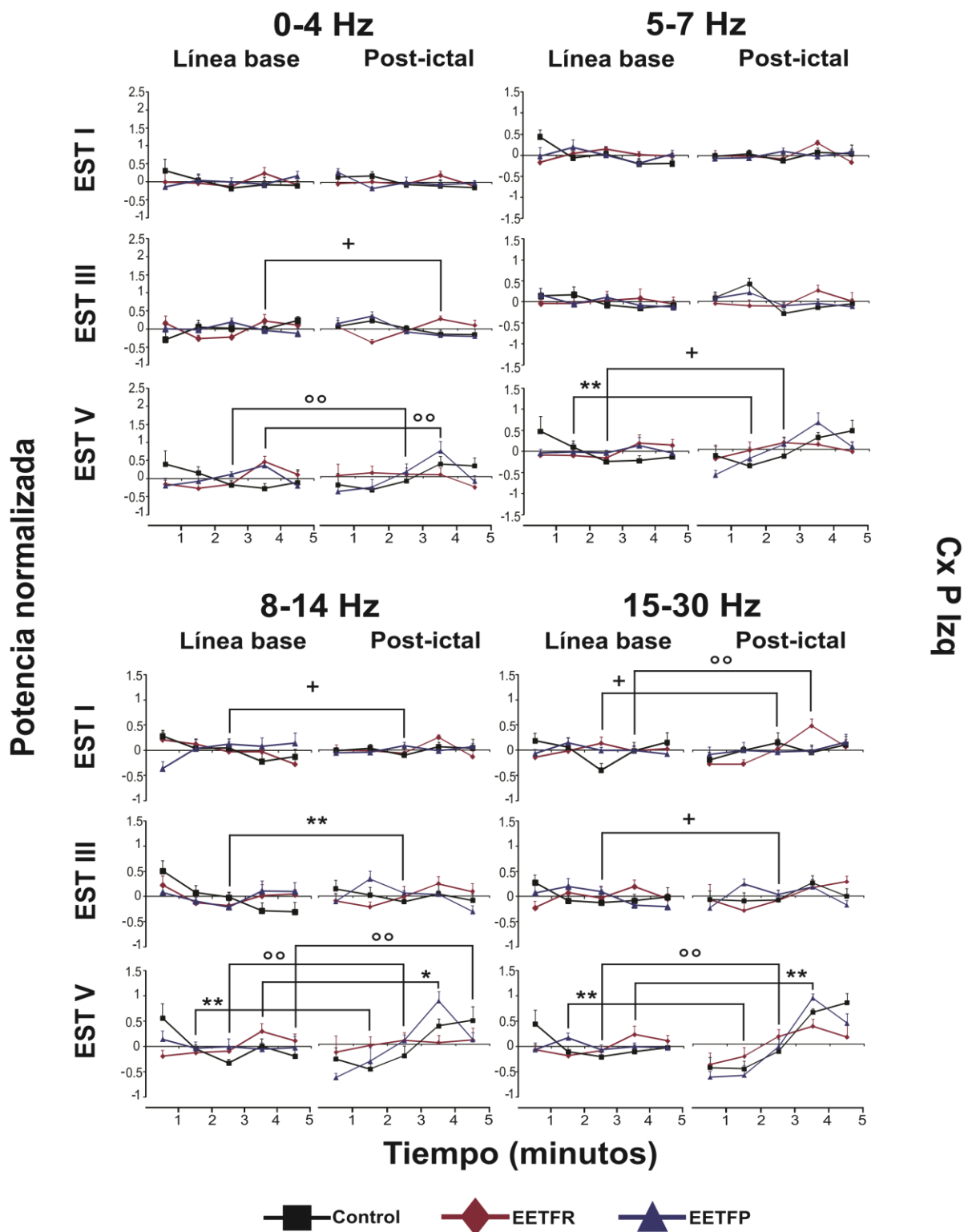


Figura 36. Variaciones de la potencia espectral en la Cx P Izq con tratamiento por EETF.

Valores de potencia normalizada ( $Z = ((x_i - \bar{x})/s)$ ) correspondientes a las bandas de frecuencia de 0-4 Hz, 5-7 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz, comparando el período de línea base con el período post-ictal de la PD en los estadios conductuales I, III y V del KEA. Nótese los cambios en la potencia para los estadios I y III, con una disminución en el grupo EETFP en las bandas de 5-7 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz. El grupo de EETFR tuvo un mayor efecto durante el estadio V en todas las bandas de frecuencia. Diferencias estadísticas en \*  $p < 0.05$ , tiempo; \*\*  $p < 0.05$ , tiempo-condición; +  $p < 0.05$ , tiempo-grupo; °  $p < 0.05$ , condición grupo; °°  $p < 0.05$ , tiempo-condición-grupo. Gráficas  $\pm$  error estándar de la media.

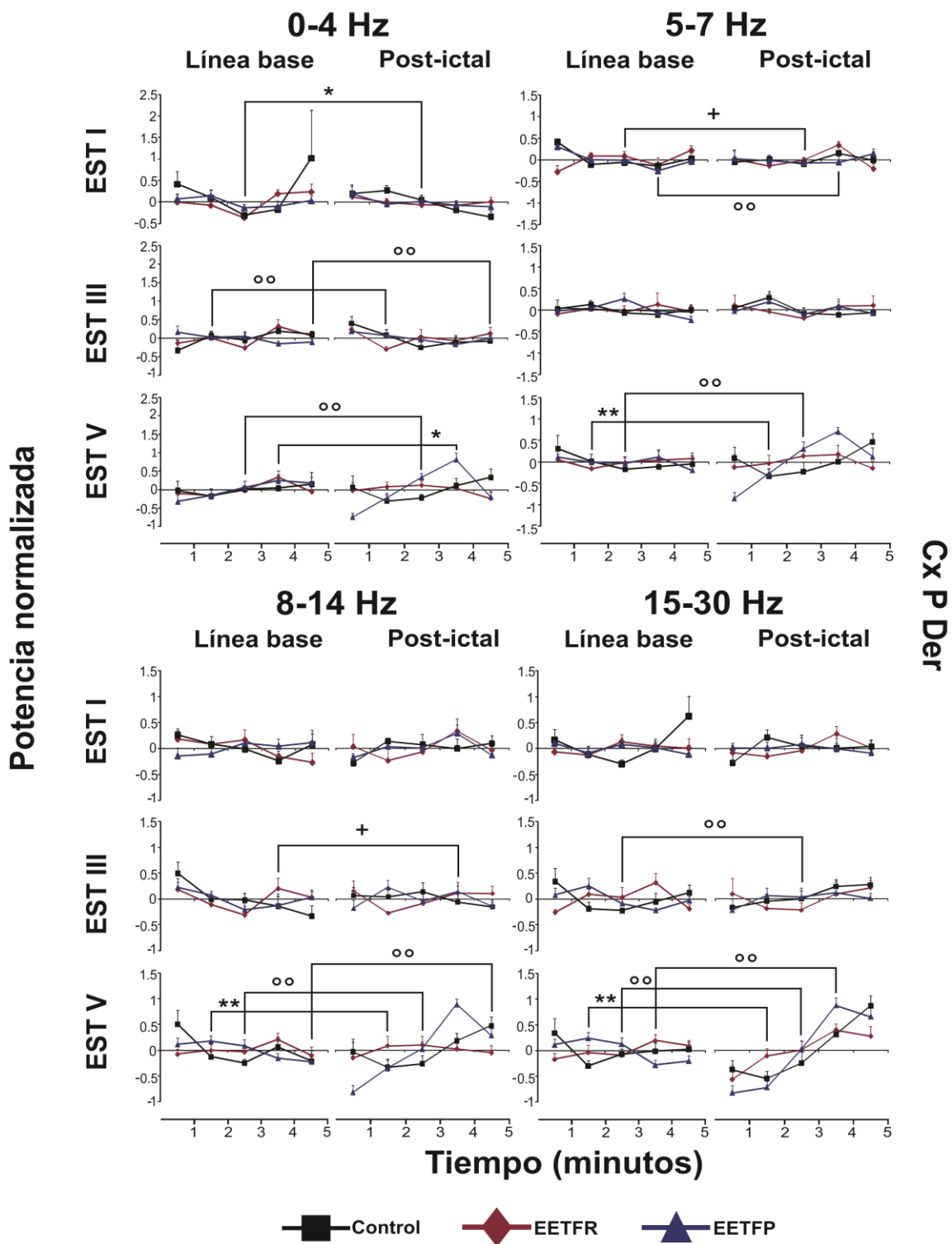
### **8.5.3. Dinámica de la potencia espectral en la corteza prefrontal derecha**

Variaciones en el estadio I: se presenta una reducción en la potencia espectral por efecto de la EETFP en las bandas de 0-4 Hz ( $p = 0.03$ ) y 5-7 Hz ( $p = 0.045$ ,  $p = 0.002$ ) mientras que la EETFR presenta un comportamiento muy similar, aunque menos consistente (véase figura 37, EST I).

Variaciones en el estadio III: la EETFP ejerce una disminución de la potencia en las bandas de 0-4 Hz ( $p = 0.04$ ), 8-14 Hz ( $p = 0.05$ ) y 15-30 Hz ( $p = 0.03$ ) en comparación con el grupo EETFR y control, con efectos más notables en las frecuencias más altas (véase figura 37, EST III, 0-4 Hz, 8-14 Hz, 15-30 Hz).

Variaciones en el estadio V: se muestra una disminución de la potencia espectral en el grupo de EETFR en todas las bandas de frecuencia durante el período post-ictal del registro, cambio que es más notable en las bandas de 8-14 Hz y 15-30 Hz. La EETFP presenta disminuciones sólo al inicio de la actividad post-ictal en todas las bandas de frecuencia (0-4 Hz,  $p = 0.01$ ; 5-7 Hz,  $p = 0.017$ ; 8-14 Hz,  $p = 0.019$ ,  $p = 0.036$ ; 15-30 Hz,  $p = 0.026$ ,  $p = 0.022$ ) (véase figura 37, EST V).

Las variaciones encontradas en la Cx P Der se sintetizan en la disminución de la potencia espectral contralateral en las bandas de 0-4 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz como resultado de la EETFP en las crisis parciales y transición a generalizadas, mientras que la EETFR reduce la potencia espectral en las crisis generalizadas con un notable efecto en las bandas de 8-14 y 15-30 Hz.



**Figura 37. Variaciones de la potencia espectral en la Cx P Der con tratamiento por EETF.**

Valores de potencia normalizada ( $Z = ((x_i - \bar{x})/s)$ ) correspondientes a las bandas de frecuencia de 0-4 Hz, 5-7 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz, comparando el período de línea base con el período post-ictal de la PD en los estadios conductuales I, III y V del KEA. Nótese los cambios en la potencia para los estadios I y III, con una disminución en el grupo EETFP en las bandas de 0-4 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz. El grupo de EETFR tuvo un mayor efecto durante el estadio V en todas las bandas de frecuencia, efecto más notable durante la fase post-ictal. Diferencias estadísticas en \*  $p < 0.05$ , tiempo; \*\*  $p < 0.05$ , tiempo-condición; +  $p < 0.05$ , tiempo-grupo; °  $p < 0.05$ , condición grupo; °°  $p < 0.05$ , tiempo-condición-grupo. Gráficas  $\pm$  error estándar de la media.

---

## 9 DISCUSIÓN

Los mecanismos relacionados a la instalación del foco convulsivo y su posterior propagación varían entre los modelos experimentales de epilepsia. Al emplear modelos químicos como la pilocarpina, PTZ o AK que producen CCG de manera aguda, los efectos de la EETF se analizan a corto plazo y sólo en la fase más severa de las crisis. El uso del KEA permite analizar los efectos anti-convulsivos de esta estimulación durante la instalación progresiva de la epileptogénesis, desde sus fases iniciales hasta su establecimiento, lo que hace posible estudiar el efecto de la EETF sobre los distintos niveles de severidad que presentan las convulsiones además de los cambios electroencefalográficos y conductuales que subyacen en éstas, de esta forma se obtiene información acerca de los circuitos en los que interfiere este tipo de estimulación cuando se aplica de manera preventiva o responsiva. Los resultados obtenidos producto de esta investigación indican que la EETF vía ETAC interfiere con el proceso de instalación de la epileptogénesis, retardando su generalización al encontrar que la EETFR y EETFP incrementan la permanencia en las crisis parciales y tienden a disminuir la severidad de las mismas. Además, la estimulación interfiere con la actividad de la potencia espectral en períodos de mayor severidad, pues son las bandas correspondientes a la actividad rápida las que presentan mayor disminución, efectos que están relacionados con un efecto protector a la susceptibilidad a crisis.

### **9.1. Efecto de la EETF sobre el desarrollo de la epileptogénesis y la susceptibilidad a crisis generalizadas**

Al aplicar la EETF se observa una tendencia a retardar la aparición de crisis generalizadas posiblemente por evitar procesos de reclutamiento neuronal, lo cual se traduce en un efecto protector al disminuir la susceptibilidad para presentar una CCGTC. Los animales sometidos a la EETFR tienen una tendencia a permanecer menos días en los estadios conductuales correspondientes a las crisis parciales y su transición a las crisis generalizadas (estadio II y estadio III), contrario a la EETFP, en la cual los animales muestran una mayor permanencia en esos mismos estadios conductuales. Además, existe una tendencia de ambos grupos con EETF a presentar crisis parciales y crisis generalizadas (estadio I, II y III) con una menor duración y frecuencia, componentes que también se vieron disminuidos una vez que los animales alcanzaron el estadio V correspondiente a una CCGTC para la EETFR y EETFP comparados con el control. En 2014 Villasana aplicó la EETF (200  $\mu$ s, 300 Hz, 2.5 mA, 40 min.) de forma preventiva en gatos con crisis

inducidas por KEA observando resultados algo similares. La estimulación provocó una ligera tendencia protectora contra la generalización de las crisis, incrementando la permanencia de la epileptogénesis en los estadios I y II. Después en otro estudio (Valdés-Cruz, *Experimental Neurology*, en revisión) se aplicó la EETF en gatos de forma responsiva y preventiva bilateralmente, encontrándose que la EETFR retardó significativamente el estado *kindled* en comparación con el control y la EETFP. También hubo un incremento de permanencia en el estadio II en comparación con los otros grupos, lo que se asocia a un efecto de interferencia de la estimulación durante el proceso de reclutamiento neuronal, evitando así la propagación de la crisis.

Los efectos anticonvulsivos y antiepileptogénicos de la EETF son similares a los reportados por Magdaleno-Madrigal en 2002 al estimular el núcleo del tracto solitario que desencadena efectos inhibitorios en el desarrollo de crisis generalizadas inducidas por KEA, además de disminuir la duración de las mismas; y por Fernández-Guardiola en 1999 estimulando el nervio vago en gatos que retarda la aparición de crisis generalizadas. Tales efectos anticonvulsivos podrían deberse a la interferencia del estímulo sobre estructuras del núcleo talámico medial que son clave en procesos de reclutamiento neuronal y aparición de CCGTC debido a la aplicación de *kindling* eléctrico.

Una posible explicación a este fenómeno podría deberse a cambios en la excitabilidad intrínseca neuronal debido a modificaciones en las propiedades de membrana neuronal, muy similar a los efectos que tiene la EETCD. La EETF vía ETAC podría incrementar la resistencia de membrana, provocando un aumento en el potencial de reposo. Un cambio en las propiedades electrolíticas de hidrógeno intracelular provocaría alteraciones en las proteínas conformadoras de membrana, modificando la permeabilidad de ésta al intercambio iónico durante los períodos de despolarización e hiperpolarización. Santana-Gómez y colaboradores en 2015 midieron mediante HPLC los niveles de liberación glutamatérgica y GABAérgica durante SE por administración de pilocarpina aplicando responsivamente EETF en el hipocampo. A intensidades de 2-2.8 mA existe una correlación positiva entre los niveles extracelulares de GABA y una disminución en los niveles de glutamato. Estos datos fueron asociados con un incremento en el umbral para presentar una PD, efecto similar al que se encontró en esta investigación, con un aumento significativo en el porcentaje de corriente para provocar una CCGTC. La EETF activaría preferentemente a interneuronas GABAérgicas durante los períodos iniciales de la actividad convulsiva, reduciendo la actividad glutamatérgica, incrementándose así el umbral.

## 9.2. Efecto de la EETF sobre la dinámica de la potencia espectral

La EETF vía ETAC provocó una disminución de la potencia espectral en AM y ambas cortezas prefrontales durante los 5 minutos post-estimulación, con efectos diferenciales durante las crisis parciales y generalizadas comparadas con los períodos CCGTC para los grupos que fueron sometidos al tratamiento. Nuestros resultados sugieren que la EETFP interfiere con la severidad de las crisis durante el proceso de instalación de la epileptogénesis, en contraste con la EETFR que ejerce su mayor efecto una vez que se ha instalado. La EETFR ejerció su mayor efecto durante las CCGTC en las cortezas prefrontales, mientras que la EETFP mostró un mayor efecto durante las crisis parciales y generalizadas en la AM y ambas cortezas. La EETFR disminuyó la potencia espectral en la mayoría de las bandas de frecuencia, teniendo un claro efecto en las frecuencias de 8-14 Hz y 15-30 Hz del estadio V, mientras que la EETFP marcó una reducción de la potencia en los períodos de instalación de las crisis con efectos en las frecuencias de los 0-4 Hz, 8-14 Hz y 15-30 Hz durante el estadio I y III.

Besio y colaboradores (2011; 2013) realizaron un análisis de coherencia interhemisférica, evaluando cuantitativamente la conectividad en regiones del cerebro sometidas al campo eléctrico del ETAC al aplicar EETF responsivamente. Se observó una disminución de la potencia espectral entre las bandas delta, teta y alfa durante la línea base, el período pre-EETF y post-EETF. Al analizar segmentos de 10 y 30 segundos hubo una disminución de la potencia en las bandas beta y gamma en el período post-EETF durante crisis generalizadas por PTZ. Durante el SE inducido por pilocarpina se ha reportado que la EETFR se asocia a una reducción de la potencia espectral en las bandas de 4-8 Hz (teta) y de 30-90 Hz (gamma) (Santana-Gómez, 2015). El incremento en los coeficientes de conectividad entre AM y corteza prefrontal se ha reportado durante las crisis y en períodos interictales como resultado de la estimulación por *kindling* (Besio et al., 2011), lo que puede sugerir que la EETF induce una desincronización interhemisférica entre estas estructuras, reduciendo la generalización. No obstante, los segmentos utilizados para el análisis fueron muy cortos en duración. Esta investigación demuestra que los efectos de la EETF son de carácter persistente, pues mostró reducir la potencia espectral hasta 5 minutos después de la PD. En los experimentos con gatos con EETFP el análisis de potencia arrojó una disminución en las bandas de 10-14 y de 15-30 Hz para las crisis parciales durante el período post-estimulación. En las crisis secundariamente generalizadas se observó una disminución del poder espectral en las bandas de 5-9, 10-14 y 15-30 Hz. En un experimento posterior al aplicar EETFR hubo una disminución de la

actividad en los períodos postictales de 5-9 Hz en la AM contralateral durante las crisis focales. (Villasana, 2014; Valdés-Cruz, *Experimental Neurology*, en revisión)

### **9.3. Distribución de la EETF debido a variables anatómicas y funcionales**

Uno de los aspectos fundamentales en protocolos de estimulación eléctrica transcraneal es que la difusión del campo eléctrico y sus efectos en el tejido dependen de muchas variables anatómicas. Se conoce que a intensidades de 2 mA la fuerza del campo eléctrico es de aproximadamente 0.328 mV/mm a una profundidad de 5 mm, valores que son considerados suficientes para generar un fuerte campo eléctrico que activaría efectivamente poblaciones neuronales. Al medir y modelar el campo en ratas empleando una intensidad de 1.3 mA con un diámetro de 6.0 mm en el electrodo se genera un campo de 400  $\mu$ V/mm a una profundidad de 10 mm. En los modelos esféricos de cabeza en humanos se usaron electrodos con 15 mm de diámetro comparados con los 10 mm del electrodo usado en los experimentos con gatos. La estimulación a 3.7 mA genera un pico máximo en el campo de 0.328 mV/mm a 1 mm de profundidad debajo de la superficie cortical. En modelos de cabeza de humanos el tejido se encuentra a 15 mm debajo de la superficie cortical, por lo tanto, el efecto del campo se genera a 16 mm de profundidad debajo del cuero cabelludo. Tomando en cuenta que la cabeza del gato tiene aproximadamente la mitad del diámetro de la cabeza humana (38.25 mm de radio contra 76.49 mm de radio respectivamente), una intensidad de 3.7 mA debería ser suficiente para activar neuronas cercanas al cerebro medio del gato, efectos que incrementarían su eficacia utilizando un electrodo de menor diámetro con una diferencia de intensidad de estimulación (2.5 mA). De esta manera se esperaría que neuronas se activaran a una menor profundidad que 16 mm debajo de la superficie del cuero cabelludo. El grosor del cráneo del gato es de 3 mm, lo que ocasionaría una menor atenuación de la EETF y el campo penetraría más allá de los 16 mm. (Valdés-Cruz et al., *Experimental Neurology*, en revisión) En esta investigación se utilizaron ratas las cuáles presentan la superficie cortical en aproximadamente 0.4 mm de profundidad, con lo cual es posible obtener una estimulación mucho más efectiva y focalizada de la población neuronal con un menor diámetro (4 mm) y mayor intensidad de corriente (2 mA). El campo eléctrico generado podría activar neuronas de estructuras subcorticales con valores mayores a 400  $\mu$ V/mm en profundidades menores a 10 mm.

Otros de los factores a considerar es el desarrollo cortical entre las especies. En la escala filogenética se conoce que especies con un mayor desarrollo cortical presentan una mayor resistencia a presentar crisis generalizadas por *kindling*, esto



muy probablemente por una población interneuronal más grande que modula la actividad de neuronas piramidales liberadoras de glutamato. Las redes excitatorias cerebrales del cortex cerebral son inherentemente inestables, por lo que es necesario un balanceo mediante actividad inhibitoria especializada para generar efectos no lineales que interrumpan procesos de sincronización, dejando a sus células blanco principales con actividad suprimida. Los arreglos entre las interneuronas y las neuronas excitatorias son clave en la iniciación y mantenimiento de redes hipsincrónicas, ya sea incrementando o disminuyendo su regulación. Los arreglos pueden ser ensamblajes por fuerza sináptica o ensamblajes por tiempo, ambas disposiciones generarán patrones de terminación e integración de actividad oscilatoria.

Las interneuronas pueden modular la actividad glutamatérgica a través del control de la salida en las células principales por inhibición perisomática, esto mediante el control en dominios dendríticos que incluyen axones colaterales atravesando la línea media hemisférica para inervar estructuras subcorticales tales como la AM y el hipocampo y mediante la evitación de células principales para hacer contacto con otras interneuronas. Además, en este tipo de células se observan diferencias en sus propiedades biofísicas respecto de las neuronas piramidales excitatorias, presentando menores umbrales de activación y picos máximos de actividad con tiempos más veloces. Los rangos de disparo son más altos que en las células principales, generando un mayor número de PPI por unidad de tiempo. Si se presenta una disminución de la actividad inhibitoria existe un incremento de oscilaciones consistentes que rápidamente se convierte en actividad oscilatoria sincrónica patológica, originando un aumento en la aparición de HFO (Buzsaki, 2007). Numerosos estudios en modelos animales y en pacientes con epilepsia han revelado que 1) las HFO son una de las más comunes manifestaciones tempranas en crisis minutos antes de su comienzo, 2) las HFO están fuertemente correlacionadas con actividad patológica justo en la zona de comienzo de la crisis, y 3) la remoción de áreas involucradas en la generación de HFO están relacionadas con buenos resultados post-quirúrgicos (Besio, Martínez-Juárez, Makeyev, Gaitanis, Blum, Fisher & Medvedev, 2014).

La rata presenta una menor población de células inhibitorias que los gatos y humanos, siendo un animal mucho más susceptible a presentar crisis inducidas por un estímulo eléctrico. Si la EETF tiene mayores efectos sobre neuronas inhibitorias se producirían focos de inhibición coordinada que evitarían el reclutamiento de otras estructuras en la ventana temporal correcta y en la dirección de propagación apropiada, disminuyendo así la frecuencia de las HFO. La activación de este tipo de células modularía a las neuronas glutamatérgicas para disminuir o suprimir su disparo.

Una mayor proporción de neuronas piramidales en esta especie podría facilitar la distribución de la corriente en el campo eléctrico debido a su disposición en columnas verticales. La dirección del flujo en la EETF es unidireccional con una modulación radial, y como sucede en la EETCD, los potenciales pueden diferir a lo largo del eje de propagación, las interneuronas actúan mayormente de forma perisomática, hiperpolarizando el cuerpo celular de la neurona piramidal independientemente del período de despolarización en que se encuentren las dendritas apicales.

En 2012 Makeyev, Besio y Ding integraron al ETAC un sistema de control automático para crisis. El sensor funciona mediante un algoritmo acumulativo llamado CUSUM que es usado en el control de la calidad y filtro de la señal, detectando cambios en la distribución de probabilidad de procesos estocásticos, además de un test radial de probabilidad generalizada llamado GLRT que integra los datos para diferenciar actividad no convulsiva. Ambas metodologías están basadas en la identificación de cambios en el poder de la señal en tiempo real, fundamentalmente el incremento de poder en el EEG correspondiente al comienzo de la crisis, de esta forma se activa automáticamente la EETF. El promedio de efectividad en la detección temprana de actividad epileptiforme es de 76.14 %. En cuanto a la estimulación se ha observado que reduce la actividad electroencefalográfica de las crisis hasta en un 70% de los casos en comparación con un grupo control. La identificación de este fenómeno ha podido ser útil para inducir EETF responsivamente con resultados efectivos. Durante crisis inducidas por PTZ se observa una reducción de la actividad en el EEG y de los cambios conductuales tempranos relacionados a las fases iniciales de la crisis en el 76.9% de los casos. Por otro lado, en 2012 Prats-Boluda y colaboradores desarrollaron un ETAC flexible para el registro eléctrico de potenciales en la superficie cortical, mejorando la identificación de fuentes bioeléctricas en el dominio espacial. La ventaja de este tipo de electrodos es que los dispositivos convencionales no toman en cuenta los substratos rígidos, dificultando las aplicaciones ambulatorias de estimulación, pues estas dependen del sitio de iniciación en la crisis una vez que se ha identificado. Los ETAC flexibles permitirán la adaptación a superficies con curvaturas como el cráneo, teniendo una mejor resolución espacial de la actividad eléctrica y una reevaluación de los potenciales bidimensionales Laplacianos que son clave en el entendimiento de la distribución de corriente debido al movimiento del dipolo, así como de su posterior difusión al tejido cerebral en forma de campo eléctrico. Estas nuevas adecuaciones hacen al ETAC un sistema viable para que pueda ser implantado subcutáneamente, reduciendo los costos generados por la asistencia periódica a sesiones de estimulación con personal especializado.

## 9.4. Efectos diferenciales de la EETFR y EETFP sobre el desarrollo de la epileptogénesis

### 9.4.1. Efectos de la EETFR

Durante la ocurrencia de las crisis por *kindling* se han observado diferentes mecanismos que involucran el incremento en la activación de sistemas de neurotransmisión excitatoria como consecuencia de la falla de actividad GABAérgica. Las investigaciones han reportado que la estimulación por *kindling* disminuye de forma considerable las conductancias de los PPI, específicamente se ha vinculado el inicio de la actividad convulsiva con el colapso en la depresión de pulsos pareados, siendo éste el mayor factor precipitante en la inducción de la respuesta ictal.

Considerando los mecanismos que desencadenan las crisis y las características electrofisiológicas de su evolución se tienen 3 componentes que pueden ser monitoreados durante la fase ictal: 1) incremento en el componente de voltaje como respuesta a la estimulación, 2) una subsecuente supresión del EEG y 3) una descarga compuesta por espigas rítmicas (Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004). El componente más importante en el cual la EETFR estaría actuando es el de la supresión transitoria de actividad EEG puesto que en este período se presenta una respuesta compensatoria excesiva de actividad inhibitoria mediada por GABA. Tal neurotransmisor está vinculado con la generación de HFO debido a las dinámicas de disparo celular rápidas propias de de corrientes somáticas y perisomáticas de las células en canasta (White, Banks, Pearce & Kopell, 2000).

La EETFR podría despolarizar a interneuronas GABAérgicas incrementando el efecto supresor para contener la excitabilidad neuronal, ocasionando que en el componente 3 exista una disminución en la amplitud y frecuencia de las espigas rítmicas, así como en la duración de la respuesta ictal (figura 38). Esto podría explicar los efectos de la EETFR en los períodos *full-kindling* (3 CCGTC consecutivas), que muestran la disminución de la potencia espectral en ambas cortezas en comparación con la EETFP y el grupo control en las bandas de 8-14 Hz y 15-30 Hz, frecuencias que se han relacionado con la instalación progresiva de actividad tipo ráfaga en el EEG y que culmina con el aumento de potencia hasta frecuencias de 40 Hz y la aparición y mantenimiento de crisis generalizadas (Musto, Samii & Hayes, 2009; Tsuchiya & Kogare, 2011).

Una reducción en estas bandas de frecuencia interferiría con los períodos de actividad sincrónica que se mantienen por la activación sostenida de los receptores AMPA y NMDA en la banda beta (13-15 Hz) y gama (20-40 Hz) como lo reporta la práctica clínica (Pastor, Uzcátegui, Gal-Iglesias, Ortega, Sola & Menéndez 2006; Rogawski, 2013). La EETFR podría disminuir los períodos de restauración de disparo neuronal interrumpiendo el incremento en el flujo de K<sup>+</sup> durante los componentes de supresión transitoria del EEG, dejando así a las células excitatorias con una menor probabilidad de despolarización.

Se sabe que la propagación de las crisis con inicio ipsilateral en la AM se difunde rápidamente hacia las zonas hipocampales que potencian la distribución del estímulo reclutando grupos neuronales hacia el sitio contraletaral y hacia toda la corteza. Debido a que el protocolo de EETFR se inicia a partir del estadio II, durante los procesos tempranos de reorganización celular y molecular de la epileptogénesis por *kindling*, muy probablemente exista una disminución en los fenómenos de potenciación sináptica que eventualmente facilitan la propagación e intensidad de las crisis. El hecho de que exista una supresión del crecimiento aberrante en las fibras musgosas y la región hilar presenta una importante reducción en la evolución de las crisis, principalmente en los mecanismos de generalización.

#### **9.4.2. Efectos de la EETFP**

El establecimiento de la epileptogénesis depende en gran medida de los cambios funcionales que se dan a consecuencia de la reorganización sináptica por *kindling* eléctrico, esto viene dado por la intensidad y la duración de las post-descargas periódicas generadas por la estimulación. El comienzo de un protocolo de EETFP en forma preventiva podría interferir con el establecimiento del proceso de epileptogénesis a través de varios mecanismos.

Posiblemente el incremento de receptores GABAérgicos, principalmente GABA<sub>A</sub> como respuesta a la EETFP pueden incrementar el umbral de activación para neuronas glutamatérgicas, haciendo más difícil el reclutamiento de grupos neuronales y la eventual aparición de crisis generalizadas. Son aproximadamente 400  $\mu\text{V}/\text{mm}$  necesarios para una activación efectiva de las células neuronales, no obstante, los grupos de interneuronas presentan umbrales de activación más bajos y rangos de disparo más veloces que sus blancos glutamatérgicos.

El aumento en los niveles GABAérgicos debido a esta actividad se ha visto vinculado a modificaciones en la configuración de los receptores GABA<sub>A</sub>.

Específicamente el incremento transitorio en la expresión mRNA para las subunidades  $\beta 3$ ,  $\gamma 2/\gamma 2L$ , 4 y 6 que a su vez aumenta la sensibilidad a  $Zn^{2+}$  (Kamphius et al., 1994). La implementación de estimulación focalizada de forma profiláctica podría modificar la eficacia sináptica inhibitoria a través de un efecto *up-regulation* de los receptores GABAérgicos amplificando de forma considerable la actividad inhibitoria sobre las células excitatorias liberadoras de glutamato.

Debido a esto, el inicio y propagación de la PD por *kindling* puede verse disminuida notablemente, como se pudo constatar en esta investigación, con la reducción de la potencia espectral durante los períodos de crisis parciales (estadio I) y transición a generalizadas (estadio III) al aplicar EETFP en las bandas de 0-4 Hz y 8-14 Hz. El *kindling* eléctrico presenta un incremento de la potencia espectral en la banda de 4-6 Hz durante la instalación de los estadios tempranos de la epileptogénesis (McIntyre & Chew, 1986), por ello que la EETFP podría interferir con estos mecanismos que desencadenan las descargas sincrónicas que culminan en la generalización de las crisis. La EETFP reduciría significativamente la actividad dependiente de AMPA y NMDA (figura 38) así como la entrada de  $Ca^{2+}$  y  $Na^{+}$ , impidiendo la despolarización y un posible reclutamiento a gran escala.

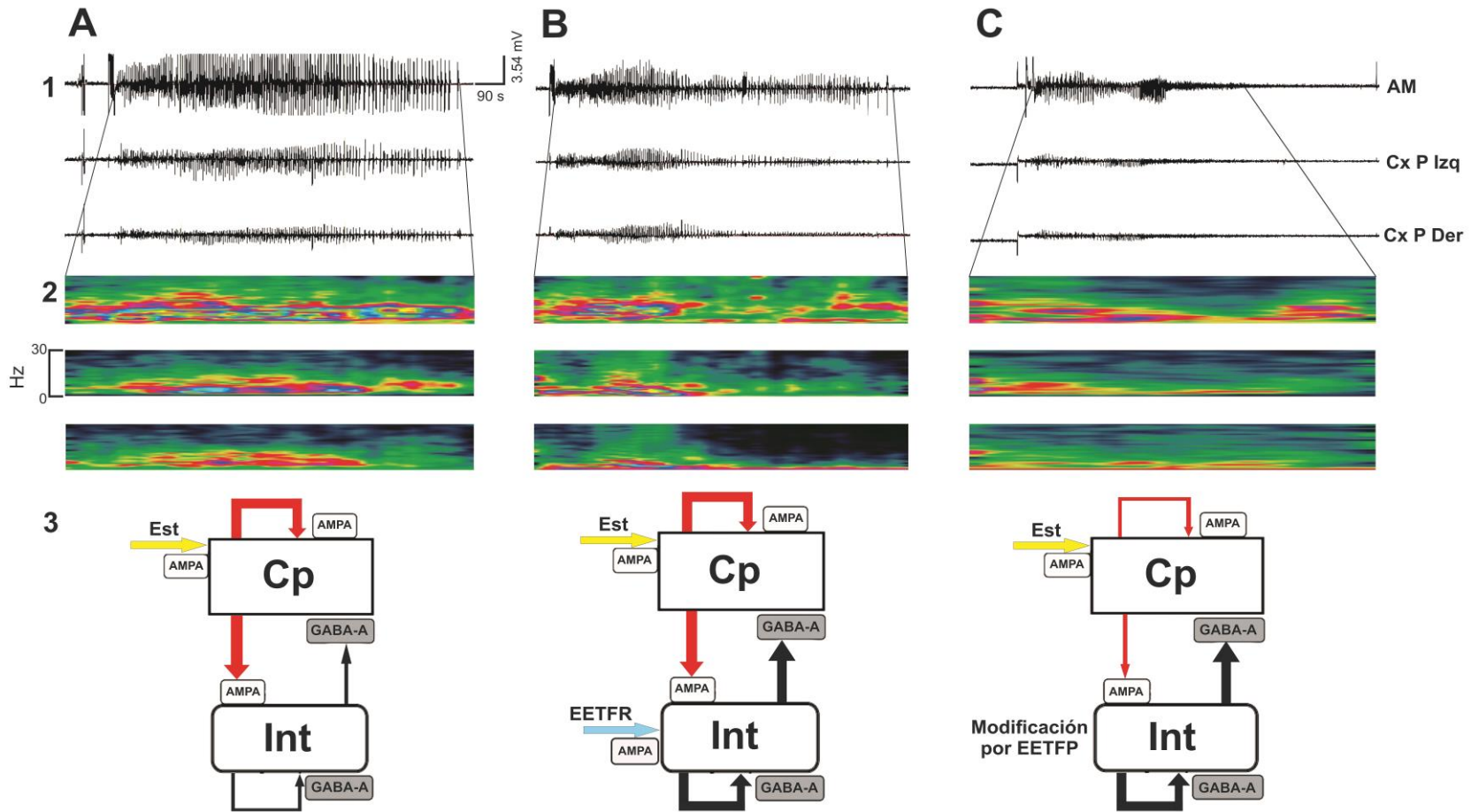


Figura 38. Representación del mecanismo teórico de acción inhibitorio por EETF vía ETAC.

**A)** Control, **B)** EETFR y **C)** EETFP. **1)** registros EEG correspondientes a AM y Cx P Izq y Cx P Der, para **A)** y **B)** registros de estadio V y para **C)** registro de estadio III. **2)** espectros de potencia representativos de los registros EEG. Nótese la disminución de frecuencia y duración de las crisis así como la potencia espectral para el grupo de EETFR con respecto al control, mientras que la EETFP presenta una crisis de estadio III reducida en frecuencia y duración que se refleja en la potencia espectral. **3)** en **A)**, el KEA induce un incremento de excitabilidad neuronal de las células principales (CP) que activa interneuronas (Int) GABAérgicas a través de receptores AMPA, tales interneuronas intentan modular la excitabilidad mediante receptores GABA<sub>A</sub> durante el período de supresión transitoria, no obstante, la actividad se fuga culminando en la aparición de la crisis. **3)** en **B)**, la EETFR interfiere con el establecimiento de las crisis durante el período de supresión cuando la interneuronas están más activas, disminuyendo así la excitabilidad y el posterior reclutamiento neuronal. **3)** en **C)**, la EETFP provoca cambios plásticos en la conformación de los receptores GABA<sub>A</sub> potenciando su acción, lo que interfiere con el establecimiento de la epileptogénesis por KEA. Flechas gruesas indican incremento en el dispaero neuronal mientras que las flechas delgadas indican disminución. Los cambios plásticos dependientes de AMPA y NMDA que genera el *kindling* eléctrico se ven mermados por la disminución de excitabilidad neuronal. Modelo teórico de crisis modificado de Molaei-Ardekani, Benquet, Bartolomei & Wendling, 2010.

## 9.5. Consideraciones futuras

Debido a las variaciones entre los tipos de estimulación, las investigaciones futuras deberán concentrarse en:

- a) Investigar el efecto de la EETF con diferentes parámetros de estimulación, principalmente con la intensidad de corriente que se induce, así como la configuración del electrodo.
- b) Indagar sobre los mecanismos de difusión del campo eléctrico sobre los tejidos epileptógenos o que presentan esclerosis por excitotoxicidad.
- c) Investigar sobre posibles terapéuticas conjuntas con la EETFP mediante administración de fármacos a dosis subefectivas distintas que también potencien la neurotransmisión GABAérgica, como el diazepam, teniendo un mejor control sobre la aparición de las crisis y condiciones más severas como el SE. Es posible que la EETFP incremente los efectos anticonvulsivos y neuroprotectores por un incremento en el flujo de  $Cl^-$  a través de receptores  $GABA_A$ , los cuáles restringen la propagación de actividad interictal en condiciones epilépticas, manteniendo el tono inhibitorio de forma suficiente para aumentar la supervivencia neuronal evitando la excitotoxicidad.
- d) Examinar los efectos de la EETF sobre las diferentes vías de propagación del KEA, así como los mecanismos de generación de HFO.
- e) Analizar los cambios ocurridos en procesos de ciclo celular (vías de señalización para proliferación y supervivencia celular) y sus efectos en la actividad de disparo neuronal debido a posibles modificaciones en las propiedades de membrana, pues las neuronas son sometidas a exposiciones prolongadas y repetidas de campos eléctricos.
- f) Analizar los cambios en los patrones de disparo en neuronas que se encuentran en regiones remotas del foco convulsivo durante y después de la EETF, con ello se puede evaluar la posibilidad de crearse un nuevo foco convulsivo.
- g) Evaluar si la EETF, tanto responsiva como preventiva provoca cambios en procesos cognitivos básicos como memoria, atención, aprendizaje y en la expresión de la conducta emocional. Respecto a esto se sabe que la EETF no provoca alteraciones en la memoria episódica. El hipocampo es una estructura crucial en la integración de distintos tipos de información (qué, dónde y cuándo) que opera en conjunto con áreas de la corteza prefrontal para la generación de recuerdos (Barker et al., 2017). Lesiones en el hipocampo (CA3 y CA1) debido a crisis epilépticas disminuyen la actividad de interneuronas GABAérgicas, alterando diferentes generadores de oscilación gama (60-90 Hz) que se acoplan con distintas fases de actividad

en la banda teta (4-12 Hz). Este proceso resulta necesario para la integración de la información y la generación de la memoria episódica. Por tanto, es posible que la EETF tenga su efecto activando la neurotransmisión inhibitoria impidiendo daños celulares en estas estructuras. (López-Pigozzi et al., 2016). En cuanto a la respuesta emocional se sabe que la EETF no produce alteraciones en la expresión de conductas tipo ansiosas, sin embargo, los criterios tomados para su evaluación sólo consideraron los movimientos exploratorios, un componente que explica parcialmente la expresión de tal conducta.

- h) Considerar el desarrollo de un sistema de circuito cerrado que sea capaz de detectar actividad epileptiforme para prevenir o abortar la aparición de un evento ictal.
- i) Considerar la medición de potenciales eléctricos con otros sistemas de estimulación de manera que la combinación de técnicas permita obtener datos en función de diversas configuraciones tanto espaciales como de sensibilidad.



---

# 10 CONCLUSIONES

Analizando los efectos de la EETF vía ETAC sobre el desarrollo de la epileptogénesis en este trabajo se puede concluir que ni la EETFR ni la EETFP retardan el estado *kindled* en sus componentes conductuales ni en la duración de las crisis. No obstante, se observa que la EETFR y la EETFP tienen efectos protectores al disminuir la susceptibilidad a CCGTC, efecto que se asocia con una tendencia a reducir la duración y frecuencia de las crisis en sus diferentes niveles de severidad.

Respecto a la potencia espectral ambos tipos de estimulación tienen efectos diferenciales: la EETFR tiende a acelerar la progresión de la epileptogénesis durante las crisis parciales, disminuyendo la actividad de la potencia espectral una vez que la epileptogénesis se ha instalado en las CCGTC mientras que la EETFP tiende a retardar la progresión de la epileptogénesis durante las crisis parciales, además de disminuir la actividad de la potencia espectral durante la fase temprana de instalación de la epileptogénesis en las crisis parciales.

Debido a esto se puede teorizar que la EETF vía ETAC podría actuar sobre la actividad de las interneuronas modulando la actividad excitatoria, interfiriendo así con la propagación de las crisis y el desarrollo de conexiones aberrantes.

Clínicamente la EETF vía ETAC promete ser una estrategia altamente eficaz en el control de las crisis epilépticas que son resistentes a los fármacos, incrementando la focalización en las densidades de energía, con mayor facilidad para adaptarse a varios tejidos, probando varias configuraciones con un solo electrodo y con menores costos de colocación y mantenimiento en comparación con otros tipos de estimulación. El hecho de que la EETF sea considerada como no invasiva amplía el rango de la población farmacorresistente que puede tener alternativas de tratamiento sin comprometer su bienestar debido a intervenciones quirúrgicas que en algunos casos pueden ser peligrosas.

---

# REFERENCIAS

- Adamec, R. (1990). Does kindling model anything clinically relevant? *Biological Psychiatry*, 27(3), 249–279. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(90\)90001-I](https://doi.org/10.1016/0006-3223(90)90001-I)
- Adamec, R. (2000). Introduction to the special issue on kindling and behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(7), 687–689. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00030-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00030-0)
- Adamec, R. E., Stark-Adamec, C., Burnham, W. M., Bruun-Meyer, S., Perrin, R., & Livingston, K. E. (1981). Power spectral analysis of EEG drug response in the kindled rat brain. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 52(5), 451–460. Recuperado de [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=6171411](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6171411) LA - eng%5Cn[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=6171411](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6171411)
- Akiyama, K., Daigen, A., Yamada, N., Itoh, T., Kohira, I., Ujike, H., Otsuki, S. (1992). Long-lasting enhancement of metabotropic excitatory amino acid receptor-mediated polyphosphoinositide hydrolysis in the amygdala/pyriform cortex of deep prepiriform cortical kindled rats. *Brain Research*, 569, 71–77.
- Akiyama, K., Yamada, N., Otsuki, S. (1989). Lasting increase in excitatory amino acid receptor-mediated polyphosphoinositide hydrolysis in the amygdala/pyriform cortex of amygdala-kindled rats. *Brain Research*, 485, 95–101.
- Al-Otaibi, F. A., Hamani, C., & Lozano, A. M. (2011). Neuromodulation in epilepsy. *Neurosurgery*, 69(4), 957–979. <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e31822b30cd>
- Al-Otaibi, F., Baeesa, S. S., Parrent, A. G., Girvin, J. P., & Steven, D. (2012). Surgical Techniques for the Treatment of Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Research and Treatment*, 2012(374848), 1–13. <https://doi.org/10.1155/2012/374848>

- Albrecht, J., & Zielińska, M. (2016). Mechanisms of Excessive Extracellular Glutamate Accumulation in Temporal Lobe Epilepsy. *Neurochemical Research*, 42(6), 1724–1734. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2105-8>
- Alvarado-Rojas, C., Huberfeld, G., Baulac, M., Clemenceau, S., Charpier, S, Miles, R., Menendez de la Prida, L., & Le Van Quyen, M. (2015). Two different mechanisms associated with ripple-like oscillations ( 100-250 Hz ) in the human epileptic subiculum in vitro, 77(2), 281–290. <https://doi.org/10.1002/ana.24324>.Two
- Asprodini, E.K., Rainnie, D.G., Shinnick-Gallagher, P. (1992). Epileptogenesis reduces the sensitivity of presynaptic gammaaminobutyric acidB receptors on glutamatergic afferents in the amygdala. *Journal of Pharmacologic Experimental Therapeutics*, 262, 1011-1021.
- Avoli, M., & de Curtis, M. (2011). GABAergic synchronization in the limbic system and its role in the generation of epileptiform activity. *Progress in Neurobiology*, 95(2), 104–132. <https://doi.org/10.1167/iavs.07-1072>.Complement-Associated
- Avoli, M., Louvel, J., Pumain, R., & Köhling, R. (2005). Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain. *Progress in Neurobiology*, 77(3), 166–200. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.09.006>
- Badawy, R. A. B., Strigaro, G., & Cantello, R. (2014). TMS, cortical excitability and epilepsy: The clinical impact. *Epilepsy Research*, 108(2), 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2013.11.014>
- Banerjee, P. N., Filippi, D., & Hauser, W. A. (2009). The descriptive epidemiology of epilepsy - a review. *Epilepsy Research*, 85(1), 31–45. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.03.003>.The
- Barker, G. R. I., Banks, P. J., Scott, H., Ralph, G. S., Mitrophanous, K. A., Wong, L. F., ... Warburton, E. C. (2017). Separate elements of episodic memory subserved by distinct hippocampal-prefrontal connections. *Nature Neuroscience*, 20(2), 242–250. <https://doi.org/10.1038/nn.4472>
- Bartolomei, F., Bonini, F., Vidal, E., Trébuchon, A., Lagarde, S., Lambert, I., ... Benar, C. G. (2016). How does vagal nerve stimulation (VNS) change EEG brain functional connectivity? *Epilepsy Research*, 126, 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.06.008>
- Bauer, S., Cepok, S., Todorova-Rudolph, A., Nowak, M., Köller, M., Lorenz, R., ...

- Hamer, H. M. (2009). Etiology and site of temporal lobe epilepsy influence postictal cytokine release. *Epilepsy Research*, 86(1), 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.05.009>
- Baxendale, S. (2008). The impact of epilepsy surgery on cognition and behavior. *Epilepsy and Behavior*, 12(4), 592–599. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2007.12.015>
- Been, G., Ngo, T. T., Miller, S. M., & Fitzgerald, P. B. (2007). The use of tDCS and CVS as methods of non-invasive brain stimulation. *Brain Research Reviews*, 56(2), 346–361. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.001>
- Begley, C. E., & Beghi, E. (2002). The economic cost of epilepsy: a review of the literature. *Epilepsia*, 43(Suppl 4), 3–9.
- Beleza, P. (2009). Refractory epilepsy: A clinically oriented review. *European Neurology*, 62(2), 65–71. <https://doi.org/10.1159/000222775>
- Bendotti, C., Vezzani, A., Tarizzo, G., Samanin, R. (1993). Increased expression of GAP-43, somatostatin and neuropeptide Y mRNA in the hippocampus during development of hippocampal kindling in rats. *European Journal of Neuroscience*, 5, 1312–1320
- Bengzon, J., Kokaia, Z., Elmer, E., Nanobashvili, A., Kokaia, M., & Lindvall, O. (1997). Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(19), 10432–10437. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.19.10432>
- Bengzon, J., Kokaia, Z., Ernfors, P., Kokaia, M., Leanza, G., Nilsson, O.G., Persson, H., Lindvall, O. (1993). Regulation of neurotrophin and trkA, trkB and trkC tyrosine kinase receptor messenger RNA expression in kindling. *Neuroscience*, 53, 433–446.
- Benini, R., Roth, R., Khoja, Z., Avoli, M., & Wintermark, P. (2016). Does angiogenesis play a role in the establishment of mesial temporal lobe epilepsy? *International Journal of Developmental Neuroscience*, 49(2), 743–750. <https://doi.org/10.1167/iov.07-1072.Complement-Associated>
- Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., Van Emde Boas, W., ... Scheffer, I. E. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, 51(4), 676–685.

<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>

Berg, A., & Cross, J. (2010). Propuesta de la ILAE de Terminología Revisada para la Organización de Crisis y Epilepsias 2010. *Lancet*, 459–461.

Bertram, E. (2007). The relevance of kindling for human epilepsy. *Epilepsia*, 48(2), 65–74. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01068.x>

Bertram, E. H., & Cornett, J. (1993). The ontogeny of seizures in a rat model of limbic epilepsy: evidence for a kindling process in the development of chronic spontaneous seizures. *Brain Research*, 625(2), 295–300. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)91071-Y](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91071-Y)

Besio, W. G., Gale, K. N., & Medvedev, A. V. (2010). Possible therapeutic effects of transcutaneous electrical stimulation via concentric ring electrodes. *Epilepsia*, 51(SUPPL. 3), 85–87. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02617.x>

Besio, W. G., Koka, K., & Cole, A. J. (2007). Effects of noninvasive transcutaneous electrical stimulation via concentric ring electrodes on pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Epilepsia*, 48(12), 2273–2279. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01202.x>

Besio, W. G., Koka, K., Aakula, R., & Dai, W. (2006a). Tri-polar concentric ring electrode development for Laplacian electroencephalography. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 53(5), 926–933. <https://doi.org/10.1109/TBME.2005.863887>

Besio, W. G., Liu, X., Wang, L., Medvedev, A. V., & Koka, K. (2011). Transcutaneous Focal Electrical Stimulation Via Concentric Ring Electrodes Reduces Synchrony Induced By Pentylentetrazole in Beta and Gamma Bands in Rats. *International Journal of Neural Systems*, 21(2), 139–149. <https://doi.org/10.1142/S0129065711002729>

Besio, W. G., Makeyev, O., Medvedev, A., & Gale, K. (2013). Effects of transcranial focal electrical stimulation via tripolar concentric ring electrodes on pentylentetrazole-induced seizures in rats. *Epilepsy Research*, 105(1–2), 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.eplesyres.2012.12.002>

Besio, W. G., Martínez-Juárez, I. E., Makeyev, O., Gaitanis, J. N., Blum, A. S., Fisher, R. S., & Medvedev, A. V. (2014). High-Frequency Oscillations Recorded on the Scalp of Patients With Epilepsy Using Tripolar Concentric

Ring Electrodes. *IEEE Journal of Translational Engineering in Health and Medicine*, 2. <https://doi.org/10.1109/JTEHM.2014.2332994>

Besio, W., Aakula, R., Koka, K., & Dai, W. (2006b). Development of a Tri-polar concentric ring electrode for acquiring accurate laplacian body surface potentials. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(3), 426–435. <https://doi.org/10.1007/s10439-005-9054-8>

Besio, W., Cuellar-Herrera, M., Luna-Munguia, H., Orozco-Suárez, S., & Rocha, L. (2013). Effects of transcranial focal electrical stimulation alone and associated with a sub-effective dose of diazepam on pilocarpine-induced status epilepticus and subsequent neuronal damage in rats. *Epilepsy and Behavior*, 28(3), 432–436. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.06.021>

Besio, W., Sharma, V., & Spaulding, J. (2010). The effects of concentric ring electrode electrical stimulation on rat skin. *Annals of Biomedical Engineering*, 38(3), 1111–1118. <https://doi.org/10.1007/s10439-009-9891-y>

Blauwblomme, T., Jiruska, P., & Huberfeld, G. (2014). Mechanisms of ictogenesis. *International Review of Neurobiology*, 114, 155–185. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418693-4.00007-8>

Blümcke, I., Thom, M., Aronica, E., Armstrong, D. D., Bartolomei, F., Bernasconi, A., ... Spreafico, R. (2013). International consensus classification of hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: A Task Force report from the ILAE Commission on Diagnostic Methods. *Epilepsia*, 54(7), 1315–1329. <https://doi.org/10.1111/epi.12220>

Blume-Chair, W. T., Lüders, H. O., Mizrahi, E., Tassinari, C., Van Emde Boas, W., & Engel, J. (2001). Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: Report of the ILAE Task Force on classification and terminology. *Epilepsia*, 42(9), 1212–1218. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2001.22001.x>

Bodin, E., Le Moing, A. G., Bourel-Ponchel, E., Querne, L., Toussaint, P., & Berquin, P. (2016). Vagus nerve stimulation in the treatment of drug-resistant epilepsy in 29 children. *European Journal of Paediatric Neurology*, 20(3), 346–351. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2016.01.011>

Bone, B., Fogarasi, A., Schulz, R., Gyimesi, C., Kalmar, Z., Kovacs, N., ... Janszky, J. (2012). Secondarily generalized seizures in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 53(5), 817–824. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03435.x>

- Brandt, C., Ebert, U., & Löscher, W. (2004). Epilepsy induced by extended amygdala-kindling in rats: Lack of clear association between development of spontaneous seizures and neuronal damage. *Epilepsy Research*, 62(2–3), 135–156. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2004.08.008>
- Britton, J. W., & So, E. L. (1995). New antiepileptic drugs: Prospects for the future. *Journal of Epilepsy*, 8(4), 267–281. [https://doi.org/10.1016/0896-6974\(95\)00049-6](https://doi.org/10.1016/0896-6974(95)00049-6)
- Brodie, M. J., Covanis, A., Gil-Nagel, A., Lerche, H., Perucca, E., Sills, G. J., & White, H. S. (2011). Antiepileptic drug therapy: Does mechanism of action matter? *Epilepsy and Behavior*, 21(4), 331–341. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2011.05.025>
- Brunoni, A. R., Nitsche, M. A., Bolognini, N., Bikson, M., Wagner, T., Merabet, L., ... Fregni, F. (2012). Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): Challenges and future directions. *Brain Stimulation*, 5(3), 175–195. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002>
- Buhl, E.H., Otis, T.S., Mody, I. (1996). Zinc-induced collapse of augmented inhibition by GABA in a temporal lobe epilepsy model. *Science*, 271, 369–373.
- Buzsáki, G. (2006). *Rhythms of the brain* (Oxford Uni). New York. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195301069.001.0001>
- Cai, P. Y., Bodhit, A., Derequito, R., Ansari, S., Abukhalil, F., Thenkabail, S., ... Hedna, V. S. (2014). Vagus nerve stimulation in ischemic stroke: Old wine in a new bottle. *Frontiers in Neurology*, 5(107), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00107>
- Cain, D.P. (1998). Kindling in genetically altered mice: implication for the roles of LTP in kindling. En: Corcoran, M.E., Moshe, S.L. (Eds.), Kindling 5. *Plenum Press*, New York, pp. 285–298.
- Carrette, S., Boon, P., Dekeyser, C., Klooster, D. C. W., Carrette, E., Meurs, A., ... Vonck, K. (2016). Repetitive transcranial magnetic stimulation for the treatment of refractory epilepsy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 23(35), 1–18. <https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1197119>
- Cascino, G. D. (1996). Electroencephalography and Epilepsy. *American Journal of Epilepsy*, 10, 16–23. <https://doi.org/10.1176/ajp.100.4.544>

- Cavazos, J. E., Das, I., & Sutula, T. P. (1994). Neuronal loss induced in limbic pathways by kindling: evidence for induction of hippocampal sclerosis by repeated brief seizures. *The Journal of Neuroscience*, *14*(5), 3106–3121.
- Cavazos, J., & Sutula, T. P. (1990). Progressive neuronal loss induced by kindling: a possible mechanism for mossy fiber synaptic reorganization and hippocampal sclerosis. *Brain Research*, *527*(1), 1–6. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91054-K](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91054-K)
- Chan, D. T. M., Zhu, X. L., Yeung, J. H. M., Mok, V. C. T., Wong, E., Lau, C., ... Poon, W. S. (2009). Complications of deep brain stimulation: A collective review. *Asian Journal of Surgery*, *32*(4), 258–263. [https://doi.org/10.1016/S1015-9584\(09\)60404-8](https://doi.org/10.1016/S1015-9584(09)60404-8)
- Chang, E. F., Englot, D. J., Vadera, S., Francisco, S., & Francisco, S. (2016). Minimally invasive surgical approaches for temporal lobe epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, *47*, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.033>. Minimally
- Clark, M., Massenburg, G.S., Weiss, S.R., Post, R.M. (1994). Analysis of the hippocampal GABAA receptor system in kindled rats by autoradiographic and in situ hybridization techniques: contingent tolerance to carbamazepine. *Molecular Brain Research*, *26*, 309–319.
- Cleeren, E., Casteels, C., Goffin, K., Janssen, P., & Van Paesschen, W. (2015). Ictal perfusion changes associated with seizure progression in the amygdala kindling model in the rhesus monkey. *Epilepsia*, *56*(9), 1366–1375. <https://doi.org/10.1111/epi.13077>
- Cleeren, E., Premereur, E., Casteels, C., Goffin, K., Janssen, P., & Van Paesschen, W. (2016). The effective connectivity of the seizure onset zone and ictal perfusion changes in amygdala kindled rhesus monkeys. *NeuroImage: Clinical*, *12*, 252–261. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2016.05.020>
- Cottrell, G. A., Nyakas, C., & Bohus, B. (1988). Hippocampal kindling-induced after-discharge and behavioural depression: immediate and long-term attenuation by opiate antagonists. *European Journal of Pharmacology*, *150*(1–2), 1–8. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90743-1](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90743-1)
- Coulter, D. A., & Steinhäuser, C. (2015). Role of Astrocytes in Epilepsy. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *3*, 1–12. <https://doi.org/10.1038/clpt.2011.183>
- Coulter, D. A., McIntyre, D. C., & Löscher, W. (2002). Animal models of limbic



epilepsies: what can they tell us? *Brain Pathology*, 12(2), 240–256.  
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2002.tb00439.x>

Coulter, D.A. (1999). Chronic epileptogenic cellular alterations in the limbic system after status epilepticus. *Epilepsia*, 40, (Suppl. 1), S23–S33.

Couras, C., Rocha da Cruz, R. A., Neves, L. H., & Andrade, A. de S. (2012). Costs of epilepsy: an experience based on a specialized center. *Jornal Brasileiro de Neurocirurgia*, 23(2), 123–130. Recuperado de [http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L368202139%5Cnhttp://www.spneurologia.com/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=77&Itemid=56%5Cnhttp://cy7sh3vq3t.search.serialssolutions.com?sid=EMBASE&sid=EMBASE&issn=1](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L368202139%5Cnhttp://www.spneurologia.com/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=77&Itemid=56%5Cnhttp://cy7sh3vq3t.search.serialssolutions.com?sid=EMBASE&sid=EMBASE&issn=1)

Curia, G., Lucchi, C., Vinet, J., Gualtieri, F., Marinelli, C., Torsello, A., ... Biagini, G. (2014). Pathophysiogenesis of mesial temporal lobe epilepsy: Is prevention of damage antiepileptogenic? *Current Medicinal Chemistry*, 21(6), 663–688.  
<https://doi.org/10.2174/0929867320666131119152201>

Dalby, N.O., Rondouin, G., Lerner-Natoli, M. (1995). Increase in GAP-43 and GFAP immunoreactivity in the rat hippocampus subsequent to perforant path kindling. *Journal of Neuroscience Research*, 41, 613–619.

Dalby, N.O., West, M., Finsen, B. (1998). Hilar somatostatin-mRNA containing neurons are preserved after perforant path kindling in the rat. *Neuroscience Letter*, 255, 45–48.

Datta, A., Bansal, V., Diaz, J., Patel, J., Reato, D., & Bikson, M. (2009). Gyri – precise head model of transcranial DC stimulation: Improved spatial focality using a ring electrode versus conventional rectangular pad. *Brain Stimulation*, 2(4), 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2009.03.005>.Gyri

Datta, A., Dmochowski, J. P., Guleyupoglu, B., Bikson, M., & Fregni, F. (2013). Cranial electrotherapy stimulation and transcranial pulsed current stimulation: A computer based high-resolution modeling study. *NeuroImage*, 65, 280–287.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.09.062>

Datta, A., Elwassif, M., Battaglia, F., & Bikson, M. (2008). Transcranial current stimulation focality using disc and ring electrode configurations: FEM analysis. *Journal of Neural Engineering*, 5(2), 163–174. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/5/2/007>

- de Boer, H. M., Mula, M., & Sander, J. W. (2008). The global burden and stigma of epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 12(4), 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2007.12.019>
- De Giorgio, C. M., & Krahl, S. E. (2013). Neurostimulation for drug-resistant epilepsy. *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*, 19(3), 743–755. <https://doi.org/10.1212/01.CON.0000431397.61970.2b>
- de Gortari, P., Fernandez-Guardiola, A., Martinez, A., Cisneros, M., Joseph-Bravo, P. (1995). Changes in TRH and its degrading enzyme pyroglutamyl peptidase II, during the development of amygdaloid kindling. *Brain Research*, 679, 144–150.
- Dhamne, S. C., Ekstein, D., Zhuo, Z., Gersner, R., Zurakowski, D., Loddenkemper, T., ... Rotenberg, A. (2015). Acute seizure suppression by transcranial direct current stimulation in rats. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 2(8), 843–856. <https://doi.org/10.1002/acn3.226>
- Dong-Hong, L., & Xiao-Feng, Y. (2017). Remote modulation of network excitability during deep brain stimulation for epilepsy. *Seizure*, 47, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2017.02.016>
- Douglas, R.M., Goddard, G.V. (1975). Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain Research*, 86, 205–215
- Dragunow, M., Yamada, N., Bilkey, D.K., Lawlor, P. (1992). Induction of immediate-early gene proteins in dentate granule cells and somatostatin interneurons after hippocampal seizures. *Molecular Brain Research*, 13, 119–126.
- During, M.J., Ryder, K.M., Spencer, D.D. (1995). Hippocampal GABA transporter function in temporal-lobe epilepsy. *Nature*, 376, 174–177.
- During, M.J., Spencer, D.D. (1993). Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain. *Lancet*, 341, 1607–1610.
- Ehlers, C. L., & Koob, G. F. (1985). Locomotor Behavior Following Kindling in Three Different Brain Sites. *Brain Research*, 326(1), 71–79. Recuperado de [isi:A1985ADB7100008](https://doi.org/10.1016/0165-1275(85)90008-8)
- Elger, C. E., & Schmidt, D. (2008). Modern management of epilepsy: A practical approach. *Epilepsy and Behavior*, 12(4), 501–539.

<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2008.01.003>

Engel, J. (1996). Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research*, 26(1), 141–150. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(96\)00043-5](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(96)00043-5)

Engel, J. (2006). Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia*, 47(9), 1558–1568. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00215.x>

Ernfors, P., Bengzon, J., Kokaia, Z., Persson, H., Lindvall, O. (1991). Increased levels of messenger RNAs for neurotrophic factors in the brain during kindling epileptogenesis. *Neuron*, 7, 165–176.

Eyo, U. B., Murugan, M., & Wu, L. J. (2017). Microglia–Neuron Communication in Epilepsy. *Glia*, 65(1), 5–18. <https://doi.org/10.1002/glia.23006>

Faria, P., Fregni, F., Sebastião, F., Dias, A. I., & Leal, A. (2012). Feasibility of focal transcranial DC polarization with simultaneous EEG recording: Preliminary assessment in healthy subjects and human epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 25(3), 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.06.027>

Fernandes, L., Custodio, I., Pinto, L., de Souza, A., Deitos, A., Sarah, M., ... Torres, I. (2012). Neurobiological effects of transcranial direct current stimulation: A review. *Frontiers in Psychiatry*, 3(110), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00110>

Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., de Gortari, P., & Fernández-Mas, R. (1996). La activación progresiva del sistema límbico (Kindling): un modelo de aprendizaje y plasticidad cerebral. *Salud Mental*, 19(3), 22–29.

Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M., Martínez, D., & Fernández-Mas, R. (1999). Vagus nerve prolonged stimulation in cats: Effects on epileptogenesis (amygdala electrical kindling): Behavioral and electrographic changes. *Epilepsia*, 40(7), 822–829. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb00787.x>

Fernández-Mas, R., Martínez, A., Gutiérrez, R., & Fernández-Guardiola, A. (1992). EEG frequency and time domain mapping study of the cortical projections of temporal lobe amygdala afterdischarge during kindling in the cat. *Epilepsy Research*, 13(1), 23–34. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(92\)90004-D](https://doi.org/10.1016/0920-1211(92)90004-D)

Fernández-Mas, R., Valdés, A., Martínez, A., Magdaleno, V., Almazán, S., Martínez, D., & Fernández-Guardiola, A. (1998). Visualización gráfica de las

transiciones de las fases del sueño en el hombre: métodos de representación tridimensional. *Salud Mental*, 21(6), 27–32.

Filmer, H. L., Dux, P. E., & Mattingley, J. B. (2014). Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function. *Trends in Neurosciences*, 37(12), 742–753. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.08.003>

Fisher, R. S. (2015). Redefining epilepsy. *Current Opinion in Neurology*, 28(2), 130–135. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000174>

Fisher, R. S., & Velasco, A. L. (2014). Electrical brain stimulation for epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 10(5), 261–270. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.59>

Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., ... Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475–482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>

Fisher, R. S., Cross, J. H., D'Souza, C., French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., ... Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 58(4), 531–542. <https://doi.org/10.1111/epi.13671>

Fisher, R. S., Scharfman, H. E., & de Curtis, M. (2014). How Can We Identify Ictal and Interictal Abnormal Activity? *Adv Exp Med Biol.*, 813, 3–23. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8914-1>

Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470–472. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x>

Francis, J., Jung, B.P., Zhang, G., Ho, W., Cheng, J., McIntyre Burnham, W., Eubanks, J.H. (2001). Perforant pathway kindling transiently induces the mRNA expression of GABA-B receptor subtypes R1A and R2 in the adult rat hippocampus. *Molecular Brain Research*, 91, 159–162.

Fritschy, J.-M. (2008). Epilepsy, E/I balance and GABA-A receptor plasticity. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 1(5), 1–6. <https://doi.org/10.3389/neuro.02.005.2008>

- García-Contreras, F., Constantino-Casas, P., Castro-Ríos, A., Nevárez-Sida, A., Del Carmen Estrada Correa, G., Carlos Rivera, F., ... Garduño-Espinosa, J. (2006). Direct medical costs for partial refractory epilepsy in Mexico. *Archives of Medical Research*, 37(3), 376–383. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.07.005>
- García-Morales, I., Gil-Nagel, A., de Rosendo, J., & Torres-Falcón, A. (2014). Alteraciones del sueño y calidad de vida en la epilepsia parcial refractaria: resultados del estudio SLEEP. *Revista de Neurología*, 58(4), 152–160.
- García-Peñas, J. ., Fournier-Del Castillo, M. C., & Domínguez-Carral, J. (2014). Epilepsia y cognición El papel de los fármacos antiepilépticos. *Revista de Neurología*, 58(SUPPL. 1), 37–42. Recuperado de <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84896454619&partnerID=40&md5=702249da9a085608ad5a838bda4a79db>
- Garcia, M. E., Garcia, I., & Guiu, J. (2010). Modelos Experimentales en epilepsia. *Neurología*, 25(3), 181–188.
- George, M. S., & Aston-Jones, G. (2010). Noninvasive techniques for probing neurocircuitry and treating illness: Vagus nerve stimulation (VNS), transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 301–316. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.87>
- George, M. S., Nahas, Z., Bohning, D. E., Mu, Q., Kozel, F. A., Borckhardt, J., & Denslow, S. (2004). Mechanisms of action of vagus nerve stimulation (VNS). *Clinical Neuroscience Research*, 4(1–2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.cnr.2004.06.006>
- Ghani, S., Vilensky, J., Turner, B., Tubbs, R. S., & Loukas, M. (2015). Meta-analysis of vagus nerve stimulation treatment for epilepsy: correlation between device setting parameters and acute response. *Child's Nervous System*, 31(12), 2291–2304. <https://doi.org/10.1007/s00381-015-2921-1>
- Gilbert, M.E. (1991). Potentiation of inhibition with perforant path kindling: an NMDA- receptor dependent process. *Brain Research*, 564, 109–116.
- Glauser, T., Ben-Menachem, E., Bourgeois, B., Cnaan, A., Chadwick, D., Guerreiro, C., ... Tomson, T. (2006). ILAE treatment guidelines: Evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia*, 47(7), 1094–

1120. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00585.x>

Goddard, G. V. (1967). Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature*, *214*(5092), 1020–1021. <https://doi.org/10.1038/2141020a0>

Goddard, G. V., McIntyre, D. C., & Leech, C. K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology*, *25*(3), 295–330. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(69\)90128-9](https://doi.org/10.1016/0014-4886(69)90128-9)

González, M. I. (2013). The possible role of GABAA receptors and gephyrin in epileptogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *7*(113), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00113>

Gorter, J. A., van Vliet, E. A., & Lopes da Silva, F. H. (2015). Which insights have we gained from the kindling and post-status epilepticus models? *Journal of Neuroscience Methods*, *260*, 96–108. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.03.025>

Grigorenko, E., Glazier, S., Bell, W., Tytell, M., Nosel, E., Pons, T., Deadwyler, S.A. (1997). Changes in glutamate receptor subunit composition in hippocampus and cortex in patients with refractory epilepsy. *J. Neurol. Sci*, *153*, 35–45.

Gschwind, M. (2017). Transcranial direct-current stimulation as treatment in epilepsy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *34*(12), 10–18. <https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1209410>

Halpern, C. H., Samadani, U., Litt, B., Jaggi, J. L., & Baltuch, G. H. (2008). Deep brain stimulation for epilepsy. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, *5*(1), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2007.10.065>

Heinrichs, J. H. (2012). The promises and perils of non-invasive brain stimulation. *International Journal of Law and Psychiatry*, *35*(2), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.ijlp.2011.12.006>

Herrera-Peco, I., Fernández-Millares, V., Pastor, J., Hernando-Requejo, V., Sola, R. G., & Alonso-Cerezo, C. (2009). Factores genéticos asociados a la epilepsia del lóbulo temporal. *Revista de Neurología*, *49*(10), 541–546.

Hidalgo-Balbuena, A. E. (2016). *Comorbilidad epilepsia-ansiedad en un modelo*

*experimental: registro encefalográfico y conductual.* (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, CDMX. Recuperado de [http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/5MBLTY1DM8BTF3DQ225T8ARF2MKCY3H5G6RA9NT8P49KJ8JE12-48467?func=find-b&request=hidalgo+balbuena&find\\_code=WRD&adjacent=N&local\\_base=TES01&x=59&y=16&filter\\_code\\_2=WYR&filter\\_request\\_2=&filter\\_code\\_3=WYR&filter\\_request\\_3=](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/5MBLTY1DM8BTF3DQ225T8ARF2MKCY3H5G6RA9NT8P49KJ8JE12-48467?func=find-b&request=hidalgo+balbuena&find_code=WRD&adjacent=N&local_base=TES01&x=59&y=16&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=)

Hirao, T., Morimoto, K., Yamamoto, Y., Watanabe, T., Sato, H., Sato, K., Sato, S., Yamada, N., Tanaka, K., Suwaki, H. (1998). Time-dependent and regional expression of GABA transporter mRNAs following amygdala-kindled seizures in rats. *Molecular Brain Research*, 54, 49–55.

Holmes, K.H., Keele, N.B., Shinnick-Gallagher, P. (1996). Loss of mGluR-mediated hyperpolarizations and increase in mGluR depolarizations in basolateral amygdala neurons in kindling-induced epilepsy. *Journal of Neurophysiology*, 76, 2808-2812.

Hramov, A. E., Koronovskii, A. A., Makarov, V. A., Pavlov, A. N., & Sitnikova, E. (2015). *Wavelets in Neuroscience* (Springer). Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-43850-3>

Huerta, P. T., & Volpe, B. T. (2009). Transcranial magnetic stimulation, synaptic plasticity and network oscillations. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, 6(7), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1743-0003-6-7>

Iadarola, M.J., Shin, C., McNamara, J.O., Yang, H.Y. (1986). Changes in dynorphin, enkephalin and cholecystokinin content of hippocampus and substantia nigra after amygdala kindling. *Brain Research*, 365, 185–191.

Jaseja, H. (2013). Deep brain stimulation in intractable epilepsy: Postulated optimal stimulation parameters. *Epilepsy and Behavior*, 29(3), 597–598. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.09.017>

Jefferys, J. G. R., Menendez de la Prida, L., Wendling, F., Bragin, A., Avoli, M., Timofeev, I., & Lopes da Silva, F. H. (2012). Mechanisms of physiological and epileptic HFO generation. *Progress in Neurobiology*, 98(3), 250–264. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.02.005>

Jin, H., Li, W., Dong, C., Wu, J., Zhao, W., Zhao, Z., ... Liu, Q. (2016). Hippocampal deep brain stimulation in nonlesional refractory mesial temporal lobe epilepsy. *Seizure*, 37(348), 1–7.

<https://doi.org/10.1016/j.seizure.2016.01.018>

Kabakov, A. Y., Muller, P. A., Pascual-Leone, A., Jensen, F. E., & Rotenberg, A. (2012). Contribution of axonal orientation to pathway-dependent modulation of excitatory transmission by direct current stimulation in isolated rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, *107*(7), 1881–1889. <https://doi.org/10.1152/jn.00715.2011>

Kaila, K., Ruusuvuori, E., Seja, P., Voipio, J., & Puskarjov, M. (2014). GABA actions and ionic plasticity in epilepsy. *Current Opinion in Neurobiology*, *26*, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.11.004>

Kalynchuk, L. E. (2000). Long-term amygdala kindling in rats as a model for the study of interictal emotionality in temporal lobe epilepsy. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *24*(7), 691–704. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00031-2](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00031-2)

Kamphuis, W., De Rijk, T.C., Lopes da Silva, F.H. (1994) GABA<sub>A</sub> receptor beta 1–3 subunit gene expression in the hippocampus of kindled rats. *Neuroscience Letter*, *174*, 5–8.

Kamphuis, W., Gorter, J.A., da Silva, F.L. (1991). A long-lasting decrease in the inhibitory effect of GABA on glutamate responses of hippocampal pyramidal neurons induced by kindling epileptogenesis. *Neuroscience*, *41*, 425–431.

Kandratavicius, L., Alves, P., Lopes-Aguilar, C., Naime, R., Henrique, E., Garcia-Cairasco, N., ... Pereira, J. (2014). Animal models of epilepsy: use and limitations, *10*, 1693–1705. <https://doi.org/10.2147/NDT.S50371>

Kandratavicius, L., Alves, P., Lopes-Aguilar, C., Naime, R., Henrique, E., Garcia-Cairasco, N., ... Pereira, J. (2014). Animal models of epilepsy: use and limitations, *10*, 1693–1705. <https://doi.org/10.2147/NDT.S50371>

Kano, T., Inaba, Y., D'Antuono, M., Biagini, G., Lévesque, M., & Avoli, M. (2015). Blockade of in Vitro Ictogenesis By Low Frequency Stimulation Coincides With Increased Epileptiform Response Latency. *Journal of Neurophysiology*, *114*, 21–28. <https://doi.org/10.1152/jn.00248.2015>

Kaplan, D.R., Miller, F.D. (2000). Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Current Opinion in Neurobiology*, *10*, 381–391.

Kapur, J., Bennett Jr., J.P., Wooten, G.F., Lothman, E.W. (1989). Evidence for a



chronic loss of inhibition in the hippocampus after kindling: biochemical studies. *Epilepsy Research*, 4, 100–108.

Kato, K., Masa, T., Tawara, Y., Kobayashi, K., Oka, T., Okabe, A., & Shiosaka, S. (2001). Dendritic aberrations in the hippocampal granular layer and the amygdalohippocampal area following kindled-seizures. *Brain Research*, 901(1–2), 281–295. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02299-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02299-5)

Kaura, S., Bradford, H.F., Young, A.M., Croucher, M.J., Hughes, P.D. (1995). Effect of amygdaloid kindling on the content and release of amino acids from the amygdaloid complex: in vivo and in vitro studies. *Journal of Neurochemistry*, 65, 1240-1249.

Khurgel, M., Racine, R. J., & Ivy, G. O. (1992). Kindling causes changes in the composition of the astrocytic cytoskeleton. *Brain Research*, 592(1–2), 338–342. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91694-A](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91694-A)

Klinger, N. V., & Mittal, S. (2016). Clinical efficacy of deep brain stimulation for the treatment of medically refractory epilepsy. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 140, 11–25. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2015.11.009>

Koka, K., & Besio, W. G. (2007). Improvement of spatial selectivity and decrease of mutual information of tri-polar concentric ring electrodes. *Journal of Neuroscience Methods*, 165(2), 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2007.06.007>

Koutroumanidis, M., Arzimanoglou, A., Caraballo, R., Goyal, S., Kaminska, A., Laoprasert, P., ... Moshé, S. L. (2017). The role of EEG in the diagnosis and classification of the epilepsy syndromes: a tool for clinical practice by the ILAE Neurophysiology Task Force (Part 1). *Epileptic Disorders*, 19(3), 233–298. <https://doi.org/10.1684/epd.2017.0935>

Koyama, R. (2016). Dentate circuitry as a model to study epileptogenesis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 39(6), 891–896. <https://doi.org/10.1248/bpb.b16-00125>

Krahl, S. E., Clark, K. B. (2012). Vagus nerve stimulation for epilepsy: A review of central mechanisms. *Surgical Neurology International*, 3 (Suppl 4), 1-27

Kuba, R., Nesvadba, D., Brázdil, M., Ošlejšková, H., Ryzí, M., & Rektor, I. (2010). Effect of chronic vagal nerve stimulation on interictal epileptiform discharges. *Seizure*, 19(6), 352–355. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2010.05.009>

- Kuruba, R., Hattiangady, B., & Shetty, A. K. (2009). Hippocampal Neurogenesis and Neural Stem Cells in Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Behaviour*, 14(Suppl 1), 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2008.08.020>. Hippocampal
- Kwan, P., & Brodie, M. J. (2000). Early identification of refractory epilepsy. *The New England Journal of Medicine*, 342(5), 314–319.
- Kwan, P., Schachter, S., & Brodie, M. (2011). Defining drug-resistant epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 16(SUPPL. 1), 67–69. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1004418>
- Kwan, P., Sills, G. J., & Brodie, M. J. (2001). The mechanisms of action of commonly used antiepileptic drugs. *Pharmacology & Therapeutics*, 90(1), 21–34. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(01\)00122-X](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(01)00122-X)
- Kwan, P., Yu, E., Leung, H., Leon, T., & Mychaskiw, M. A. (2009). Association of subjective anxiety, depression, and sleep disturbance with quality-of-life ratings in adults with epilepsy. *Epilepsia*, 50(5), 1059–1066. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01938.x>
- Lange, C., Storkebaum, E., Ruiz de Almodóvar, C., Dewerchin, M., & Carmeliet, P. (2016). Vascular endothelial growth factor: A neurovascular target in neurological diseases. *Nature Reviews Neurology*, 12(8), 439–454. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.88>
- Leach, M. J., Marden, C. M., Miller, A. A., O'Donnell, R. A., & Weston, S. B. (1985). Changes in cortical amino acids during electrical kindling in rats. *Neuropharmacology*, 24(10), 937–940. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(85\)90118-2](https://doi.org/10.1016/0028-3908(85)90118-2)
- Li, G., Bauer, S., Nowak, M., Norwood, B., Tackenberg, B., Rosenow, F., ... Hamer, H. M. (2011). Cytokines and epilepsy. *Seizure*, 20(3), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2010.12.005>
- Li, J. J., Li, Y. H., Gong, H. Q., Liang, P. J., Zhang, P. M., & Lu, Q. C. (2016). The spatiotemporal dynamics of phase synchronization during epileptogenesis in amygdala-kindling mice. *PLoS ONE*, 11(4), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153897>
- Li, S., Reinprecht, I., Fahnestock, M., Racine, R.J. (2002). Activity-dependent changes in synaptophysin immunoreactivity in hippocampus, piriform cortex, and entorhinal cortex of the rat. *Neuroscience*, 115, 1221–1229.

Liebetanz, D., Klinker, F., Hering, D., Koch, R., Nitsche, M. A., Potschka, H., ... Tergau, F. (2006). Anticonvulsant effects of transcranial direct-current stimulation (tDCS) in the rat cortical ramp model of focal epilepsy. *Epilepsia*, 47(7), 1216–1224. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00539.x>

long-lasting changes in synaptic transmission in the basolateral amygdala. *Journal of Neurophysiology*, 67, 443–454.

López-Hernández, E., & Solís, H. (2012). Epilepsia del lóbulo temporal y las neuronas hipocámpales de las áreas CA1 y CA3. *Revista de La Facultad de Medicina de La UNAM*, 55(5), 16–25.

López-Meraz, M. L., Rocha, L., Miquel, M., Hernández, M. E., Toledo Cárdenaz, R., Coria-ávila, G. A., ... Manzo, J. (2009). Conceptos básicos de la epilepsia. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*, 9(2), 31–37.

Lopez-Pigozzi, D., Laurent, F., Brotons-Mas, J. R., Valderrama, M., Valero, M., Fernandez-Lamo, I., ... Menendez de la Prida, L. (2016). Altered Oscillatory Dynamics of CA1 Parvalbumin Basket Cells during Theta-Gamma Rhythmopathies of Temporal Lobe Epilepsy. *eNeuro*, 3(6), 1–20. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0284-16.2016>

López, F. J., Rodríguez, X., Gil-Nagel, A., Carreño, M., Serratosa, J., Villanueva, V., ... Mercadé, J. M. (2015). Epilepsia resistente a fármacos. Concepto y alternativas terapéuticas. *Neurología*, 30(7), 439–446. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2014.04.012>

Lorigados, L., Orozco, S., Morales, L., Estupiñán, B., García, I., & Rocha, L. (2013). Excitotoxicidad y muerte neuronal en la epilepsia. *Biotechnología Aplicada*, 30(1), 1–8.

Löscher, W. (1997). Animal models of intractable epilepsy. *Progress in Neurobiology*, 53(2), 239–258. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(97\)00035-X](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(97)00035-X)

Löscher, W. (2002). Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research*, 50(1–2), 105–123. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(02\)00073-6](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(02)00073-6)

Löscher, W. (2011). Critical review of current animal models of seizures and

epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*, 20(5), 359–368. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2011.01.003>

Löscher, W., & Brandt, C. (2010). Prevention or Modification of Epileptogenesis after Brain Insults: Experimental Approaches and Translational Research. *Pharmacological Reviews*, 62(4), 668–700. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003046>

Löscher, W., & Potschka, H. (2002). Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301(1), 7–14. <https://doi.org/10.1124/jpet.301.1.7>

Löscher, W., Jäckel, R., & Czuczwar, S. J. (1986). Is amygdala kindling in rats a model for drug-resistant partial epilepsy? *Experimental Neurology*, 93(1), 211–226. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(86\)90160-3](https://doi.org/10.1016/0014-4886(86)90160-3)

Louis, E. D., Williamson, P. D., & Darcey, T. M. (1987). Experimental models of chronic focal epilepsy: a critical review of four models. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 60(3), 255–272. Recuperado de <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2590100&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>

Luo, C., Ikegaya, Y., & Koyama, R. (2016). Microglia and neurogenesis in the epileptic dentate gyrus. *Neurogenesis*, 3(1), e1235525. <https://doi.org/10.1080/23262133.2016.1235525>

Lyons, M. K. (2011). Deep brain stimulation: Current and future clinical applications. *Mayo Clinic Proceedings*, 86(7), 662–672. <https://doi.org/10.4065/mcp.2011.0045>

Machado, S., Arias-Carrion, O., Paes, F., Teles, R. V., Caixeta, L., Novaes, F., ... Egidio, A. N. (2013). Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation for Clinical Applications in Neurological and Psychiatric Disorders: An Overview. *The Eurasian Journal of Medicine*, 45(3), 191–206. <https://doi.org/10.5152/eajm.2013.39>

Magdaleno-Madriral, V. M., Valdés-Cruz, A., Martínez-Vargas, D., Martínez, A., Almazán, S., Fernández-Mas, R., & Fernández-Guardiola, A. (2002). Effect of electrical stimulation of the nucleus of the solitary tract on the development of electrical amygdaloid kindling in the cat. *Epilepsia*, 43(9), 964–969. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.05702.x>

- Makeyev, O., & Besio, W. G. (2016a). Finite element method modeling to assess Laplacian estimates via novel variable inter-ring distances concentric ring electrodes. *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS, 2016*, 2054–2057. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2016.7591131>
- Makeyev, O., & Besio, W. G. (2016b). Improving the accuracy of Laplacian estimation with novel multipolar concentric ring electrodes. *Sensors*, *80*, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2015.11.017>
- Makeyev, O., Ding, Q., Kay, S. M., & Besio, W. G. (2012). Sensor integration of multiple tripolar concentric ring electrodes improves pentylenetetrazole-induced seizure onset detection in rats. *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS*, 5154–5157. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2012.6347154>
- Malmgren, K., & Thom, M. (2012). Hippocampal sclerosis-Origins and imaging. *Epilepsia*, *53*(SUPPL. 4), 19–33. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03610.x>
- Manganotti, P., & Del Felice, A. (2013). New perspectives in transcranial magnetic stimulation: Epilepsy, consciousness and the perturbational approach. *Behavioural Neurology*, *27*(2), 155–167. <https://doi.org/10.3233/BEN-2012-120263>
- Marchi, N., & Lerner-Natoli, M. (2013). Cerebrovascular Remodeling and Epilepsy. *Neuroscientist*, *19*(3), 304–312. <https://doi.org/10.1177/1073858412462747.Cerebrovascular>
- Mathern, G.W., Mendoza, D., Lozada, A., Pretorius, J.K., Dehnes, Y., Danbolt, N.C., Nelson, N., Leite, J.P., Chimelli, L., Born, D.E., Sakamoto, A.C., Assirati, J.A., Fried, I., Peacock, W.J., Ojemann, G.A., Adelson, P.D. (1999). Hippocampal GABA and glutamate transporter immunoreactivity in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology*, *52*, 453–472.
- McIntyre, D. C., & Chew, G. L. (1986). Power spectral analysis of electroencephalographic activity in kindled rats. *Experimental Neurology*, *92*(1), 261–266. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(86\)90139-1](https://doi.org/10.1016/0014-4886(86)90139-1)
- Meguro, R., Lu, J., Gavrilovici, C., & Poulter, M. O. (2004). Static, transient and permanent organization of GABA-A receptor expression in calbindin-positive interneurons in response to amygdala kindled seizures. *Journal of*

*Neurochemistry*, 91(1), 144–154. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02701.x>

Miller, F.D., Kaplan, D.R. (2001). Neurotrophin signalling pathways regulating neuronal apoptosis. *Cellular and Molecular Life Science*, 58, 1045–1053.

Minamoto, Y., Itano, T., Tokuda, M., Matsui, H., Janjua, N.A., Hosokawa, K., Okada, Y., Murakami, T.H., Negi, T., Hatase, O. (1992). In vivo microdialysis of amino acid neurotransmitters in the hippocampus in amygdaloid kindled rat. *Brain Research*, 573, 345–348.

Miniussi, C., Harris, J. A., & Ruzzoli, M. (2013). Modelling non-invasive brain stimulation in cognitive neuroscience. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(8), 1702–1712. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.06.014>

Minjoli, S., Saturnino, G. B., Blicher, J. U., Stagg, C. J., Siebner, H. R., Antunes, A., & Thielscher, A. (2017). The impact of large structural brain changes in chronic stroke patients on the electric field caused by transcranial brain stimulation. *NeuroImage: Clinical*, 15, 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.04.014>

Miocinovic, S., Lempka, S. F., Russo, G. S., Maks, C. B., Butson, C. R., Sakaie, K. E., ... McIntyre, C. C. (2009). Experimental and theoretical characterization of the voltage distribution generated by deep brain stimulation. *Methods*, 216(1), 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.11.024>. Experimental

Miocinovic, S., Somayajula, S., Chitnis, S., & Vitek, J. L. (2013). History, applications, and mechanisms of deep brain stimulation. *JAMA Neurology*, 70(2), 163–171. <https://doi.org/10.1001/2013.jamaneurol.45>

Miranda, P. C., Mekonnen, A., Salvador, R., & Ruffini, G. (2013). The electric field in the cortex during transcranial current stimulation. *NeuroImage*, 70(December), 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.12.034>

Mlinar, S., Petek, D., Cotič, Ž., Mencin Čeplak, M., & Zaletel, M. (2016). Persons with Epilepsy: Between Social Inclusion and Marginalisation. *Behavioural Neurology*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2018509>

Mogul, D. J., & van Drongelen, W. (2014). Electrical Control of Epilepsy. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 16(1), 483–504. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-104720>

- Molae-Ardekani, B., Benquet, P., Bartolomei, F., & Wendling, F. (2010). Computational modeling of high-frequency oscillations at the onset of neocortical partial seizures: From “altered structure” to “dysfunction.” *NeuroImage*, 52(3), 1109–1122. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.12.049>
- Moradi Chameh, H., Janahmadi, M., Semnanian, S., Shojaei, A., & Mirnajafi-Zadeh, J. (2015). Effect of low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on kindling-induced changes in electrophysiological properties of rat CA1 pyramidal neurons. *Brain Research*, 1606, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.02.023>
- Morimoto, K. (1989). Seizure-triggering mechanisms in the kindling model of epilepsy: Collapse of GABA-mediated inhibition and activation of NMDA receptors. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 13(4), 253–260. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(89\)80059-4](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(89)80059-4)
- Morimoto, K., Fahnestock, M., & Racine, R. J. (2004). Kindling and status epilepticus models of epilepsy: Rewiring the brain. *Progress in Neurobiology*, 73(1), 1–60. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.03.009>
- Morimoto, K., Goddard, G.V. (1985). Effects of thyrotropin-releasing hormone on evoked responses and long-term potentiation in dentate gyrus of rat. *Experimental Neurology*, 90, 401–410.
- Morimoto, K., Sato, K., Sato, S., Yamada, N., Hayabara, T. (1998). Time-dependent changes in neurotrophic factor mRNA expression after kindling and long-term potentiation in rats. *Brain Research*, 45, 599–605.
- Morin-Brureau, M., Rigau, V., & Lerner-Natoli, M. (2012). Why and how to target angiogenesis in focal epilepsies. *Epilepsia*, 53(6), 64–68. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03705.x>
- Morris, R.G., Anderson, E., Lynch, G.S., Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-d-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319, 774–776
- Moshé, S. L., Perucca, E., Ryvlin, P., & Tomson, T. (2015). Epilepsy: New advances. *The Lancet*, 385(9971), 884–898. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60456-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60456-6)
- Musto, A. E., Samii, M. S., & Hayes, J. F. (2009). Different phases of

- afterdischarge during rapid kindling procedure in mice. *Epilepsy Research*, 85(2–3), 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.02.020>
- Namba, T., Morimoto, K., Sato, K., Yamada, N., Kuroda, S. (1994). Antiepileptogenic and anticonvulsant effects of NBQX, a selective AMPA receptor antagonist, in the rat kindling model of epilepsy. *Brain Research*, 638, 36–44.
- Neugebauer, V., Keele, N.B., Shinnick-Gallagher, P. (1997). Epileptogenesis in vivo enhances the sensitivity of inhibitory presynaptic metabotropic glutamate receptors in basolateral amygdala neurons in vitro. *Journal of Neuroscience*, 17, 983-995.
- Nitsche, M. a, & Paulus, W. (2009). Noninvasive brain stimulation protocols in the treatment of epilepsy: current state and perspectives. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 6(2), 244–250. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2009.01.003>
- Nitsche, M. A., Cohen, L. G., Wassermann, E. M., Priori, A., Lang, N., Antal, A., ... Pascual-Leone, A. (2008). Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimulation*, 1(3), 206–223. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2008.06.004>
- Noachtar, S., & Borggraefe, I. (2009). Epilepsy surgery: A critical review. *Epilepsy and Behavior*, 15(1), 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2009.02.028>
- Noohi, S., & Amirsalari, S. (2016). History, studies and specific uses of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in treating epilepsy. *Iranian Journal of Child Neurology*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.1515/ling.1995.33.1.123>
- Nusser, Z., Hajos, N., Somogyi, P., Mody, I. (1998). Increased number of synaptic GABA-A receptors underlies potentiation at hippocampal inhibitory synapses. *Nature*, 395, 172–177.
- Oka, E., Ohtsuka, Y., Yoshinaga, H., Murakami, N., Kobayashi, K., & Ogino, T. (2006). Prevalence of childhood epilepsy and distribution of epileptic syndromes: A population-based survey in Okayama, Japan. *Epilepsia*, 47(3), 626–630. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00477.x>
- Okuma, C., Hirai, T., Kamei, C. (2001). Mechanism of the inhibitory effect of histamine on amygdaloid-kindled seizures in rats. *Epilepsia*, 42, 1494–1500.



- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). Nota descriptiva: Epilepsia. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/es/>
- Ono, M., Akiyama, K., Tsutsui, K., Kuroda, S. (1994). Differential changes in the activities of multiple protein kinase C subspecies in the hippocampal-kindled rat. *Brain Research*, 660, 27–33.
- Unidad de Salud Mental y uso de Sustancias de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2013). Epilepsia en Latinoamérica. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1754.4088>
- Pachlatko, C. (1997). The cost of epilepsy care to the community. *Seizure*, 6, 415–417.
- Parakh, M., & Katewa, V. (2014). Non-Pharmacologic Management of Epilepsy. *Indian Journal of Pediatrics*, 81(10), 1073–1080. <https://doi.org/10.1007/s12098-014-1519-z>
- Parakh, M., & Katewa, V. (2014). Non-Pharmacologic Management of Epilepsy. *Indian Journal of Pediatrics*, 81(10), 1073–1080. <https://doi.org/10.1007/s12098-014-1519-z>
- Parent, J.M., Janumpalli, S., McNamara, J.O., Lowenstein, D.H. (1998). Increased dentate granule cell neurogenesis following amígdala kindling in the adult rat. *Neuroscience Letter*, 247, 9–12.
- Pastor, J., Uzcátegui, Y. G., Gal-Iglesias, B., Ortega, G. J., Sola, R. G., & Menéndez De La Prida, L. (2006). Bases fisiopatológicas de la epilepsia del lóbulo temporal: estudios en humanos y animales. *Revista de Neurología*, 42(11), 663–673.
- Paur, H., & Chazot, P. L. (2007). The anatomy of epilepsy. *Current Anaesthesia and Critical Care*, 18(1), 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.cacc.2007.03.015>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Journal of Chemical Information and Modeling. ELSEVIER Academic Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Pereira, L. S., Müller, V. T., da Mota Gomes, M., Rotenberg, A., & Fregni, F. (2016). Safety of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with epilepsy: A systematic review. *Epilepsy and Behavior*, 57, 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.01.015>

- Pereno, G. L. (2010). Fisiopatología de la epilepsia del lóbulo temporal: revisión del proceso de muerte neuronal a la neuroplasticidad. *Revista Argentina de Ciencias Del Comportamiento*, 2(1), 46–57. Recuperado de <http://revistas.unc.edu.ar/index.php/racc/article/view/5269>
- Peterchev, A. (2017). Measurements and models of electric fields in the in vivo human brain during transcranial electric stimulation. *eLife*, 6(25812), 2016–2018. <https://doi.org/10.7554/eLife.18834>
- Picot, M. C., Baldy-Moulinier, M., Daurès, J. P., Dujols, P., & Crespel, A. (2008). The prevalence of epilepsy and pharmaco-resistant epilepsy in adults: A population-based study in a Western European country. *Epilepsia*, 49(7), 1230–1238. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01579.x>
- Pitkänen, A., & Lukasiuk, K. (2009). Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 14(1 SUPPL. 1), 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2008.09.023>
- Pitkänen, A., Kharatishvili, I., Karhunen, H., Lukasiuk, K., Immonen, R., Nairismägi, J., ... Nissinen, J. (2007). Epileptogenesis in Experimental Models. *Epilepsia*, 48(SUPPL. 9), 13–16. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01063.x>
- Prats-Boluda, G., Gil-Sanchez, L., Ye-Lin, Y., Ibañez, J., Garcia-Casado, J., & Garcia-Breijo, E. (2012). Flexible concentric ring electrode for non invasive bioelectrical surface recordings. *Procedia Engineering*, 47, 1223–1226. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.09.373>
- Proper, E.A., Jansen, G.H., van Veelen, C.W., van Rijen, P.C., Gispen, W.H., de Graan, P.N. (2001). A grading system for hippocampal sclerosis based on the degree of hippocampal mossy fiber sprouting. *Acta of Neuropathology*, 101, 405–409.
- Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32(3), 281–294. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
- Racine, R. J. (1975). Modification of seizure activity by electrical stimulation: Cortical areas. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 38(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(75\)90204-7](https://doi.org/10.1016/0013-4694(75)90204-7)
- Racine, R.J., Gartner, J.G., Burnham, W.M. (1972). Epileptiform activity and neural plasticity in limbic structures. *Brain Research*, 47, 262–268.

- Rainnie, D.G., Asproдини, E.K., Shinnick-Gallagher, P. (1992). Kindling induced
- Ramani, R. (2008). Vagus nerve stimulation therapy for seizures. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, 20(1), 29–35.  
<https://doi.org/10.1097/ANA.0b013e31815b7df1> [doi]
- Remy, S., & Beck, H. (2006). Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy. *Brain*, 129(1), 18–35.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awh682>
- Represa, A., Le Gall La Salle, G., Ben-Ari, Y. (1989). Hippocampal plasticity in the kindling model of epilepsy in rats. *Neuroscience Letter*, 99, 345–350.
- Rigau, V., Morin, M., Rousset, M.-C., de Bock, F., Lebrun, A., Coubes, P., ... Lerner-Natoli, M. (2007). Angiogenesis is associated with blood-brain barrier permeability in temporal lobe epilepsy. *Brain*, 130(7), 1942–1956.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awm118>
- Robey, R. W., Lazarowski, A., & Bates, S. E. (2008). P-glycoprotein--a clinical target in drug-refractory epilepsy? *Molecular Pharmacology*, 73(5), 1343–6.  
<https://doi.org/10.1124/mol.108.046680>
- Rogawski, M. A. (2013). AMPA Receptors as a Molecular Target in Epilepsy Therapy. *Acta Neurol Scand Suppl*, (197), 9–18.  
<https://doi.org/10.1111/ane.12099> AMPA
- Roux, P.P., Barker, P.A. (2002). Neurotrophin signaling through the p75 neurotrophin receptor. *Progress in Neurobiology*, 67, 203–233.
- Rubio, C., Rubio-Osornio, M., Retana-Márquez, S., López, M., Custodio, V., & Paz, C. (2010). In Vivo Experimental Models of Epilepsy. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 10, 298–309.  
<https://doi.org/10.2174/187152410793429746>
- Sanchez-Piña, S. A. (2016). *Modelado de los efectos de pérdida neuronal en regiones asociadas con la Epilepsia del Lóbulo Temporal usando Autómatas Celulares*. (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional.
- San-Juan, D., Espinoza López, D. A., Vázquez Gregorio, R., Trenado, C., Fernández-González, M., Morales-Quezada, L., ... Fregni, F. (2017). Transcranial Direct Current Stimulation in Mesial Temporal Lobe Epilepsy and Hippocampal Sclerosis. *Brain Stimulation*, 10(1), 28–35.

<https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.08.013>

San-Juan, D., Morales-Quezada, L., Orozco Garduño, A. J., Alonso-Vanegas, M., González-Aragón, M. F., López, D. A. E., ... Fregni, F. (2015). Transcranial direct current stimulation in epilepsy. *Brain Stimulation*, 8(3), 455–464. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.01.001>

Santana-Gómez, C. E., Alcántara-González, D., Luna-Munguía, H., Bañuelos-Cabrera, I., Magdaleno-Madrigal, V., Fernández-Mas, R., ... Rocha, L. (2015). Transcranial focal electrical stimulation reduces the convulsive expression and amino acid release in the hippocampus during pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Epilepsy and Behavior*, 49, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.037>

Sato, K., Kashihara, K., Morimoto, K., Hayabara, T. (1996). Regional increases in brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor mRNAs during amygdaloid kindling, but not in acidic and basic growth factor mRNAs. *Epilepsia*, 37, 6–14.

Sato, M., Morimoto, K., Wada, J.A. (1984). Antiepileptic effects of thyrotropin-releasing hormone and its new derivative, DN-1417, examined in feline amygdaloid kindling preparation. *Epilepsia*, 25, 537–544.

Sato, M., Racine, R. J., & McIntyre, D. C. (1990). Kindling: basic mechanisms and clinical validity. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 76(0013–4694), 459–472.

Sayin, U., Osting, S., Hagen, J., Rutecki, P., & Sutula, T. (2003). Spontaneous seizures and loss of axo-axonic and axo-somatic inhibition induced by repeated brief seizures in kindled rats. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(7), 2759–2768. Recuperado de <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=12684462&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers3://publication/uuid/A80BE018-DFF6-4B86-9EE5-80C7BF2145C1>

Schachter, S. C. (2002). Current evidence indicates that antiepileptic drugs are anti-ictal, not antiepileptic. *Epilepsy Research*, 50(1–2), 67–70. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(02\)00069-4](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(02)00069-4)

Scharfman, H. E. (2006). *Seizure-Induced Neurogenesis in the Dentate Gyrus and its Dependence on Growth Factors and Cytokines. Growth Factors and*

*Epilepsy* (Nova Scien).

Scharfman, H. E., & Brooks-Kayal, A. R. (2014). Is Plasticity of GABAergic Mechanisms Relevant to Epileptogenesis? *Adv Exp Med Biol.*, 813, 133–150. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8914-1>

Scharfman, H. E., & Buckmaster, P. S. (2014). *Issues in Clinical Epileptology: A View from the Bench* (Springer, Vol. 813). London. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8914-1>

Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., ... Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512–521. <https://doi.org/10.1111/epi.13709>

Scott, B.W., Wang, S., Burnham, W.M., De Boni, U., Wojtowicz, J.M. (1998). Kindling-induced neurogenesis in the dentate gyrus of the rat. *Neuroscience Letter*, 248, 73–76.

Sepkuty, J.P., Cohen, A.S., Eccles, C., Rafiq, A., Behar, K., Ganel, R., Coulter, D.A., Rothstein, J.D. (2002). A neuronal glutamate transporter contributes to neurotransmitter GABA synthesis and epilepsy. *Journal of Neuroscience*, 22, 6372–6379.

Shi, L. H., Luo, F., Woodward, D. J., McIntyre, D. C., & Chang, J. Y. (2007). Temporal sequence of ictal discharges propagation in the corticolimbic basal ganglia system during amygdala kindled seizures in freely moving rats. *Epilepsy Research*, 73(1), 85–97. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2006.08.008>

Shoji, Y., Tanaka, E., Yamamoto, S., Maeda, H., & Higashi, H. (1998). Mechanisms Underlying the Enhancement of Excitatory Synaptic Transmission in Basolateral Amygdala Neurons of the Kindling Rat. *Journal of Neurophysiology*, 80(2), 638–646. Recuperado de <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/80/2/638>

Shorvon, S. D. (2011). The etiological classification of epilepsy. *Epilepsia*, 52(6), 1052–1057. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511921001.004>

Siebzehnrbul, F. A., & Blumcke, I. (2008). Neurogenesis in the human hippocampus and its relevance to temporal lobe epilepsies. *Epilepsia*, 49(SUPPL 5), 55–65. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01638.x>

- Singh, S., He, X., McNamara, J., & Danzer, S. (2013). Morphological changes among hippocampal dentate granule cells exposed to early kindling-epileptogenesis. *Hippocampus*, 23(12), 1883–1889. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1256>
- Sloviter, R.S. (1991). Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the “dormant basket cell” hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*, 1, 41–66.
- Smith, E. H., Liou, J. Y., Davis, T. S., Merricks, E. M., Kellis, S. S., Weiss, S. A., ... Schevon, C. A. (2016). The ictal wavefront is the spatiotemporal source of discharges during spontaneous human seizures. *Nature Communications*, 7(11098), 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms11098>
- Smith, P. D., McLean, K. J., Murphy, M. A., Turnley, A. M., & Cook, M. J. (2005). Seizures, not hippocampal neuronal death, provoke neurogenesis in a mouse rapid electrical amygdala kindling model of seizures. *Neuroscience*, 136(2), 405–415. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.07.055>
- Spigelman, I., Yan, X. X., Obenaus, A., Lee, E. Y., Wasterlain, C. G., & Ribak, C. E. (1998). Dentate granule cells form novel basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 86(1), 109–120. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00028-1](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00028-1)
- Stagg, C. J., & Nitsche, M. A. (2011). Physiological basis of transcranial direct current stimulation. *Neuroscientist*, 17(1), 37–53. <https://doi.org/10.1177/1073858410386614>
- Stefan, H., & Feuerstein, T. J. (2007). Novel anticonvulsant drugs. *Pharmacology and Therapeutics*, 113(1), 165–183. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.07.005>
- Sugiyama, K., Nozaki, T., Asakawa, T., Koizumi, S., Saitoh, O., & Namba, H. (2015). The Present Indication and Future of Deep Brain Stimulation. *Neurologia Medico-Chirurgica*, 55(5), 416–421. <https://doi.org/10.2176/nmc.ra.2014-0394>
- Sunderam, S., Gluckman, B., Reato, D., & Bikson, M. (2010). Toward rational design of electrical stimulation strategies for epilepsy control. *Epilepsy and Behavior*, 17(1), 6–22. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2009.10.017>

- Sutula, T., Steward, O. (1986). Quantitative analysis of synaptic potentiation during kindling of the perforant path. *Journal of Neurophysiology*, 56, 732–746
- Téllez-Zenteno, J. F., & Hernández-Ronquillo, L. (2012). A Review of the Epidemiology of Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Research and Treatment*, 2012, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2012/630853>
- Thom, M. (2014). Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: A neuropathology review. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 40(5), 520–543. <https://doi.org/10.1111/nan.12150>
- Toyota, H., Ito, C., Yanai, K., Sato, M., Watanabe, T. (1999). Histamine H1 receptor binding capacities in the amygdalas of the amygdaloid kindled rat. *Journal of Neurochemistry*, 72, 2177–2180.
- Tsuchiya, K., & Kogure, S. (2011). Fast Fourier transformation analysis of kindling-induced afterdischarge in the rabbit hippocampus. *Epilepsy Research*, 95(1–2), 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2011.03.015>
- Tsuchiya, K., & Kogure, S. (2012). Spectral analysis of bilateral or alternate-site kindling-induced afterdischarges in the rabbit hippocampi. *Epilepsy Research*, 101(3), 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2012.04.003>
- Tuff, L.P., Racine, R.J., Adamec, R. (1983). The effects of kindling on GABA-mediated inhibition in the dentate gyrus of the rat. I. Paired-pulse depression. *Brain Research*, 277, 79–90.
- Udupa, K., & Chen, R. (2015). The mechanisms of action of deep brain stimulation and ideas for the future development. *Progress in Neurobiology*, 133, 27–49. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.08.001>
- Usui, N. (2016). Current Topics in Epilepsy Surgery. *Neurologia Medico-Chirurgica*, 56(5), 228–235. <https://doi.org/10.2176/nmc.ra.2015-0328>
- Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M., Martínez-Vargas, D., Fernández-Mas, R., Almazán-Alvarado, S. (2008). Long-term changes in sleep and electroencephalographic activity by chronic vagus nerve stimulation in cats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(3), 828–834
- Velasco, A. L. (2013). *Epilepsia: Un punto de vista Latinoamericano* (Alfil). México, D.F. <https://doi.org/978-607-8283-63-7>

- Velíšek, L. (2006). Models of Chemically-Induced Acute Seizures. En Pitkänen, A., Buckmaster, P. S., Galanopoulou, A. S., Moshé, S. L. (2017). Models of Seizures and Epilepsy. EEUU: Academic Press.
- Vezzani, A., Sperk, G., Colmers, W.F. (1999). Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends in Neuroscience*, 22, 25–30.
- Villasana Salazar, B. (2014). *Efecto de la Estimulación Transcraneal Focal sobre la Epileptogénesis en Gatos Libres de Movimiento*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de [http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/5MBLTY1DM8BTF3DQ225T8ARF2MKCY3H5G6RA9NT8P49KJ8JE12-50017?func=full-set-set&set\\_number=024105&set\\_entry=000002&format=999](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/5MBLTY1DM8BTF3DQ225T8ARF2MKCY3H5G6RA9NT8P49KJ8JE12-50017?func=full-set-set&set_number=024105&set_entry=000002&format=999)
- Volcy-Gómez, M. (2004). Epilepsia del lóbulo temporal mesial: fisiopatología, características clínicas, tratamiento y pronóstico. *Revista de Neurología*, 38(7), 663–667.
- Vonck, K., & Boon, P. (2008). *The Mechanism of Action of Vagus Nerve Stimulation Therapy*. *European Neurological Review* (Vol. 3). <https://doi.org/10.17925/ENR.2008.03.02.97>
- Wada, J. (2001). Epilepsy as a progressive (or nonprogressive benign) disorder. *International Review of Neurobiology*, 45, 481–504.
- Wada, J., & Sato, M. (1974). Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala in cats. *Neurology*, 565–574.
- Waldbaum, S., & Patel, M. (2010). Mitochondrial Oxidative Stress in Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Research*, 88(1), 23–45. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.09.020>. Mitochondrial
- Weiss, S. A., Alvarado-Rojas, C., Bragin, A., Behnke, E., Fields, T., Fried, I., ... Staba, R. (2016). Ictal onset patterns of local field potentials, high frequency oscillations, and unit activity in human mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 57(1), 111–121. <https://doi.org/10.1111/epi.13251>
- White, J. A., Banks, M. I., Pearce, R. A., & Kopell, N. J. (2000). Networks of interneurons with fast and slow gamma -aminobutyric acid type A (GABA-A) kinetics provide substrate for mixed gamma-theta rhythm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(14), 8128–8133. <https://doi.org/10.1073/pnas.100124097>



- Wrench, J. M., Matsumoto, R., Inoue, Y., & Wilson, S. J. (2011). Current challenges in the practice of epilepsy surgery. *Epilepsy and Behavior*, 22(1), 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2011.02.011>
- Wu, C., & Sharan, A. D. (2013). Neurostimulation for the treatment of epilepsy: A review of current surgical interventions. *Neuromodulation*, 16(1), 10–24. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1403.2012.00501.x>
- Yokoyama, H., Sato, M., Inuma, K., Onodera, K., Watanabe, T. (1996). Centrally acting histamine H1 antagonists promote the development of amygdala kindling in rats. *Neuroscience Letter*, 217, 194–196.
- Yusta, A. (2005). Crisis convulsivas. Concepto, clasificación y etiología. *Emergencias: Revista de La Sociedad Española de Medicina de Urgencias Y Emergencias*, 17(5), 1068–1073.
- Zavala-Tecuapetla, C., & López-Meraz, M. L. (2011). Modelos experimentales de epilepsia en ratas en desarrollo. *Neurobiología*, 2(2), 1–16.
- Zeiler, F. A., Zeiler, K. J., Teitelbaum, J., Gillman, L. M., & West, M. (2015). VNS for refractory status epilepticus. *Epilepsy Research*, 112, 100–113. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.02.014>
- Zhang, L.X., Smith, M.A., Kim, S.Y., Rosen, J.B., Weiss, S.R., Post, R.M. (1996). Changes in cholecystokinin mRNA expression after amygdala kindled seizures: an in situ hybridization study. *Molecular Brain Research*, 35, 278–284.
- Zhang, W.Q., Hudson, P.M., Sobotka, T.J., Hong, J.S., Tilson, H.A. (1991). Extracellular concentrations of amino acid transmitters in ventral hippocampus during and after the development of kindling. *Brain Research*, 540, 315–318.