

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EFFECTO DEL HIDROXIDO DE ALUMINIO SOBRE LA
CELULARIDAD DE LAS CAPAS DE CORTEZA
MOTORA EN GATOS.

MODELO EXPERIMENTAL DE EPILEPSIA.

TESIS PROFESIONAL

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA:

NORMA OLIVARES GASAMANS

MEXICO, D. F.

1977



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.

LAB. Tesis 1977
ABQ. [REDACTED]
FECHA 4
PROC. 307
1



QUIMICA

JURADO

PRESIDENTE: ENRRIQUE CALDERON GARCIA

VOCAL: VICTORIA VALLES DE BOURGUES

SECRETARIO: LUIS SALINAS MADRIGAL

1er. SUPLENTE: JORGE HARO CASTELLANOS

2o. SUPLENTE: MAURO CRUZ MORALES

SUSTENTANTE: NORMA OLIVARES GASAMANS

ASESOR DEL TEMA: LUIS SALINAS MADRIGAL

SUPERVISOR TECNICO: ALFREDO FERIA VELASCO

EL TEMA SE DESARROLLO EN:

EL CENTRO MEDICO NACIONAL DEL IMSS y

UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA DE OCCIDENTE

DEL IMSS.

A MIS TIOS ALICIA Y
SERGIO POR EL APOYO
QUE ME HAN BRINDADO.

Agradezco la ayuda prestada por los doctores
ALFREDO FERIA VELASCO,
LUIS SALINAS MADRIGAL y
MARCOS VELASCO C.

en la realización y supervisión del presente
trabajo y a las Secciones de BIOMETRIA y AU-
DIOVISUAL de la Unidad de Investigación Bio-
médica de Occidente su valiosa colaboración.

INDICE

	página
GENERALIDADES	1
ANTECEDENTES	10
HIPOTESIS Y OBJETIVO	29
MATERIAL Y METODOS	30
RESULTADOS	34
DISCUSION	36
RESUMEN	42
REFERENCIAS	44

GENERALIDADES

CONCEPTO DE SISTEMA NERVIOSO. El sistema nervioso es un conjunto de células altamente especializadas. Su papel principal es regular las diferentes funciones de los componentes de un organismo y relacionarlo con el medio externo.

Desde el punto de vista anatómico el sistema nervioso se divide en: sistema nervioso central y sistema nervioso periférico. El sistema nervioso central está constituido por el encéfalo y la médula espinal y el sistema nervioso periférico a su vez consta de ganglios autonómicos, ganglios cerebrospinales, paraganglios, nervios periféricos y terminaciones nerviosas.

Si se considera la relación de un organismo con el medio ambiente, el sistema nervioso se divide en sistema nervioso vegetativo o autónomo y sistema nervioso somático.

La unidad anatómica, funcional y de origen del sistema nervioso es la neurona, célula que está constituida por un cuerpo celular o soma y prolongaciones citoplásmicas. Las prolongaciones que conducen los impulsos al soma pueden ser múltiples y se denominan dendritas, en tanto que aquéllas que conducen los impulsos que se alejan del cuerpo celular reciben el nombre de axones y existe sólo un axón por neuro

na (8, 70).

PROPIEDADES BASICAS DEL TEJIDO NERVIOSO. De las propiedades fundamentales de la materia viva, el tejido nervioso tiene desarrolladas al máximo la excitabilidad y la conductividad. La excitabilidad es la capacidad que posee una célula de responder ante un estímulo, en tanto que la conductividad es la propiedad que tienen las células de conducir estímulos a través de su protoplasma (57, 75). Otras propiedades de la materia viva y que también se encuentran con diferente grado de expresión en las neuronas son: absorción, pinocitosis, fagocitosis, digestión, asimilación, secreción, excreción, respiración, crecimiento, diferenciación y reproducción (39).

EXCITABILIDAD. La excitabilidad es una propiedad fundamental que poseen todas las células vivas y se define como la capacidad de dichas células de responder a cambios que ocurren en el medio que las rodea. En los organismos superiores existen algunas células, como la neurona, en las cuales esta propiedad está altamente desarrollada (1, 60, 75). Existen múltiples evidencias que indican que la excitabilidad está íntimamente relacionada con fenómenos fisicoquímicos que ocurren a nivel de la membrana citoplásmica (1, 60); entre estos fe-

nómenos se tiene principalmente un intercambio iónico que modifica el potencial de membrana en las células.

CONCEPTO DE POTENCIAL DE MEMBRANA. Si un microelectrodo es introducido al interior de la célula se observa una diferencia de potencial entre este electrodo y otro de referencia colocado en el medio que rodea la célula. Esta diferencia de potencial, que en la célula en reposo es negativa (aproximadamente - 80 mV en la neurona) se denomina potencial de reposo o potencial de membrana (1, 6, 20, 23).

Desde el punto de vista fisicoquímico, la distribución asimétrica de especies iónicas individuales a los lados de una membrana semipermeable puede originar dos tipos de potenciales eléctricos: los potenciales de equilibrio y los potenciales de difusión. En los potenciales de equilibrio se considera que la membrana es permeable a una sola especie iónica y en el caso de los potenciales de difusión la membrana posee permeabilidad a diversos iones al mismo tiempo (6).

Existe una distribución desigual de iones entre el interior de la célula y su medio externo (TABLA I) y en relación con los fenómenos de excitabilidad, las diferencias cuantitativas más importantes se refieren a los iones sodio, potasio

TABLA I. CONCENTRACION DE ANIONES Y CATIONES
EN LOS ESPACIOS INTRACELULAR E IN -
TERSTICIAL (mEq /l).

IONES	LIQUIDO INTERSTICIAL	LIQUIDO INTRACELULAR
Na ⁺	145	12
K ⁺	4	155
Cl ⁻	120	3.8
HCO ₃ ⁻	27	8
OTROS	7	155

y cloro (6, 37, 40). Debido a que la membrana plasmática posee permeabilidad selectiva a diversos iones durante el potencial de reposo, la teoría más satisfactoria para explicar este potencial es la teoría de los potenciales de difusión.

Los potenciales de difusión se originan en un sistema donde existen dos compartimientos separados por una membrana con diferente grado de permeabilidad a varias especies iónicas, las cuales se encuentran en concentraciones diferentes a ambos lados de la membrana. En estos sistemas el potencial de membrana desaparecerá con el tiempo a menos que el volumen de solución de cada lado sea infinito. En el caso de las células, la membrana plasmática presenta diferente grado de permeabilidad para los iones de los compartimientos intra y extracelular (1, 6, 23). Debido a que el volumen intracelular de líquido no es infinito y tampoco lo es el del espacio intersticial e intravascular, deben existir mecanismos adicionales de operación que mantengan estables los potenciales de difusión y conserven las diferencias de concentraciones iónicas en ambos compartimientos. Entre estos mecanismos se pueden mencionar: la asimetría en la distribución iónica entre el citoplasma y el medio externo, la presencia de proteínas y su efecto sobre las concentraciones de iones intra y

extracelulares en base al equilibrio de Gibbs-Donnan y la bomba de sodio a nivel de la membrana (6, 32). Estos mecanismos son los que supuestamente mantienen el potencial de reposo.

POTENCIAL DE ACCION. En condiciones de reposo la membrana plasmática se encuentra polarizada (potencial de reposo) y es prácticamente impermeable al ion sodio. Cuando la célula es estimulada la permeabilidad de la membrana al sodio aumenta bruscamente y este ion fluye hacia el interior de la célula. Esta entrada de sodio determina la despolarización total de la célula y aun la inversión de la polaridad (alrededor de + 30 mV) (60). La entrada de sodio a la célula cesa cuando se alcanza un equilibrio para este ion, fenómeno llamado inactivación (4, 42, 74). Poco después de que se inicia el cambio de permeabilidad al sodio, la membrana aumenta su permeabilidad al potasio y este ion sale de la célula; se ha postulado que probablemente esta salida de potasio juegue un papel muy importante en el inicio de la repolarización de la membrana (37, 60). Este proceso de despolarización y repolarización dura unos cuantos milisegundos y se denomina potencial de acción (33).

Cuando la membrana de la célula nerviosa, tanto a nivel del soma como de sus prolongaciones se encuentra despolarizada se habla de excitación de la célula, en tanto que si ésta se encuentra hiperpolarizada se dice que la célula está inhibida. Algunos autores han postulado que, el que la membrana de la célula nerviosa se despolarice o se hiperpolarice depende de las especies iónicas que pasen a través de la membrana a causa de cambios conformacionales en la misma, determinados por la interacción de los neurotransmisores liberados en los botones sinápticos, con sus receptores específicos (24, 74). Los neurotransmisores que determinan despolarización de la membrana postsináptica se denominan EXCITADORES como la acetilcolina y aquéllos que determinan una hiperpolarización de la membrana postsináptica se denominan INHIBIDORES como la glicina o el ácido gama-aminobutírico (GABA). Así mismo, las neuronas que en sus terminales sinápticas liberan neurotransmisores excitatorios se denominan EXCITATORIAS y aquéllas que liberan neurotransmisores inhibitorios se denominan INHIBITORIAS (24, 74).

En el sistema nervioso central existe un equilibrio dinámico de la excitabilidad en el que interviene fundamentalmente el balance entre excitaciones e inhibiciones en las diferentes áreas. A un nivel más fino, puesto que la excitabi-

lidad depende de fenómenos fisicoquímicos que tienen lugar alrededor de la membrana plasmática, existen múltiples condiciones intra y extramembranales que son capaces de modificar esta propiedad. Entre los factores membranales se pueden mencionar los siguientes:

a) cambios conformacionales, principalmente relacionados con la estructura de las proteínas (97),

b) modificaciones del estado o la carga de los lípidos (59),

c) cambios en el radio de los poros de la membrana plasmática (50),

d) alteración en la configuración o carga de las glucoproteínas de superficie (29, 51) y

e) cambios en los metabolitos involucrados en procesos enzimáticos a nivel de la membrana (2).

Entre las más importantes condiciones extramembranales capaces de influir en la excitabilidad pueden citarse:

a) las concentraciones iónicas extra e intramembranales (35),

b) el aporte de nutrientes necesarios para mantener la homeostasis: oxígeno, glucosa, etc. (65),

c) la presencia de drogas que interfieren o inhiben el

metabolismo celular (49, 72),

d) algunos metabolitos o fármacos capaces de hiperpolarizar o hipopolarizar la membrana (37) y

e) la participación de elementos perineuronales tales como las células gliales (48).

Debido a que en el presente trabajo se trata de un modelo experimental de epilepsia y al caracterizarse esta entidad por un aumento importante en la excitabilidad del sistema nervioso central, se creyó conveniente aquí analizar el concepto de hiperexcitabilidad. En fisiología, la hiperexcitabilidad puede entenderse como una condición en la cual el umbral de excitación de las células se encuentra en un nivel inferior al normal, por consiguiente éstas se despolarizarán con estímulos de menor intensidad o duración que en condiciones normales.

El aumento en la excitabilidad del sistema nervioso, cuando involucra áreas motoras, se manifiesta en forma de convulsiones. Se entiende por convulsión una contracción violenta e involuntaria de los músculos voluntarios, en uno o más grupos musculares (21). El tipo de convulsión dependerá por una parte de la naturaleza de la lesión y por otra, del sitio lesionado del sistema nervioso central.

Existen diversas condiciones y alteraciones locales o generalizadas que cursan con convulsiones, sin que necesariamente se trate de alguna de las formas de epilepsia. Entre las más importantes se pueden citar: hipoxia, fiebre, hipoglucemia, hipocalcemia, uremia, fiebre reumática, tétanos, arteriosclerosis y algunas alteraciones locales, como defectos congénitos, hemorragias, lesiones vasculares, infecciones, parasitosis, traumatismos y tumores (3, 95).

ANTECEDENTES

Durante muchos siglos se consideró la epilepsia como una enfermedad sagrada y como una forma de "posesión". Este concepto persistió hasta la edad media a pesar de que Hipócrates, hace aproximadamente 2 500 años la consideró como una enfermedad verdadera y le aplicó precisamente el nombre de epilepsia. El término deriva de la palabra griega epilambanein, que significa "coger súbitamente" y da a entender que el enfermo es sorprendido bruscamente por ataques convulsivos y pérdida de la conciencia (12). A partir del siglo pasado este padecimiento ha sido objeto de múltiples enfoques de diversas disciplinas médicas. De esta manera, ha recibido consideraciones de tipo anatómico, fisiológico, bioquímico y humanístico.

Actualmente la epilepsia se define como una condición o trastorno crónico de etiología diversa caracterizado por crisis paroxísticas (convulsivas o no) y recurrentes, independientemente de sus manifestaciones clínicas o de laboratorio (7, 19). La crisis epiléptica es una exageración de la frecuencia de descarga neuronal de un grupo numeroso de neuronas, que además actúan en forma sincrónica y con reclutamiento de impulsos. Se entiende por reclutamiento la "acumula -

ción" de impulsos en una determinada zona del encéfalo y como sincronización la descarga masiva simultánea de dichos im pulsos por parte de un determinado número de neuronas. La transmisión de la descarga epiléptica sigue las vías fisioló gicas de interconexión neuronal.

Debido a la multiplicidad de factores etiológicos, el término epilepsia se considera más adecuadamente como un sín drome que como una enfermedad, e incluye convulsiones o tras tornos convulsivos con o sin pérdida de la conciencia así como ataques no convulsivos con cambios ligeros del estado de alerta (34).

Desde el punto de vista epidemiológico, se estima para la epilepsia una prevalencia global de 5 por 1000 de la po - blación general y de 18 por 1000 de la población infantil, con una incidencia del 0.5 por mil al año. En México, se ha calculado que existen unos 250 000 epilépticos en el país, con una cifra aproximada de 25 000 casos nuevos cada año (61).

Clínicamente se pueden considerar las siguientes formas de epilepsia: gran mal, pequeño mal, crisis motoras focales, epilepsia psicomotora, estado epiléptico y epilepsia refle - ja.

El gran mal es un ejemplo de epilepsia generalizada, su

etiología es múltiple y puede ocurrir a cualquier edad. Se caracteriza por comenzar con una fase prodrómica de duración variable que consiste en cambios del estado emocional. El ataque propiamente se inicia con un aura, breve experiencia sensorial en relación con la localización del foco de origen del ataque. En ocasiones precedida de movimientos localizados, la convulsión en sí ocurre con una súbita emisión de voz, pérdida de la conciencia, rigidez del tronco y extremidades, movimientos clónicos y trastornos de la respiración; hay incontinencia de orina y heces y puede ocurrir mordedura de lengua. Después de algunos minutos cesa la actividad motora excesiva, se normaliza la respiración y poco a poco se recupera la conciencia, con frecuencia existe un estado de confusión y algunos trastornos neurológicos postictales y por lo general hay olvido total del cuadro, a excepción del prodromo o del aura (3, 93).

El pequeño mal consiste en un breve período de "ausencia", con pérdida de la conciencia y dura pocos segundos, ocurre casi siempre en la infancia y su frecuencia disminuye después de la pubertad. Esta forma de epilepsia se considera idiopática y rara vez se encuentra una causa orgánica. Clínicamente el paciente cesa bruscamente su actividad sin

perder el tono postural, pone la mirada fija y los ojos en blanco y en ocasiones presenta pequeños movimientos de los músculos de la cara. La crisis finaliza también súbitamente (55).

Las crisis focales o parciales dependen de la participación de una zona específica del cerebro y se manifiestan con síntomas y signos característicos, dependiendo del área involucrada. Aquellas lesiones que afectan alguna región motora de la corteza producen las denominadas crisis motoras jacksonianas. Clásicamente, comienzan con un movimiento repetitivo de la parte distal de una extremidad y se extienden hacia el tronco. Existen también crisis focales sensoriales y pueden ser de tipo jacksoniano, es decir, comenzar por la parte distal de una extremidad y difundirse hacia toda ella (12).

En la epilepsia psicomotora las zonas generalmente afectadas son el lóbulo temporal, la amígdala, el hipocampo y estructuras límbicas asociadas, se presenta tanto en niños como en adultos. Las crisis se manifiestan por un aura inicial de ansiedad y síntomas viscerales. Se produce una alteración de la conciencia, conducta somática automática y conducta motora autonómica. De ordinario, el automatismo es estereotipado y en ocasiones depende del ambiente y de las condiciones

psicológicas. Suele haber amnesia para los acontecimientos de la crisis (10,12).

Se llama estado epiléptico a la repetición rápida de cualquier tipo de ataque epiléptico sin recuperación. En general, se aplica a las crisis de gran mal, aunque se presenta también en crisis de pequeño mal y psicomotora. Este estado puede durar horas o días y se requiere tratamiento médico de urgencia por el peligro de lesión cerebral y muerte. Muchas veces la causa desencadenante es la supresión brusca de una medicación anticonvulsiva o un cambio rápido en la misma (43, 93).

La epilepsia refleja consiste en convulsiones focales o generalizadas asociadas a alteraciones concomitantes en el electroencefalograma que son evocadas en algunos pacientes mediante la estimulación sensorial de alguna zona de disparo (10, 19).

MODELOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA. Existen múltiples modelos experimentales de epilepsia que, aunque presentan ciertas diferencias en relación con la epilepsia humana, poseen características que contribuyen a entender algunos aspectos de la fisiopatología de la epilepsia humana. Son diversas

las técnicas empleadas para el logro de estos modelos e incluyen desde procedimientos físicos (congelación) hasta el uso de antagonistas metabólicos (metionina sulfoximina). Si se considera la técnica utilizada en cada uno de los modelos, podemos clasificarlos de la siguiente manera:

A) Modelos logrados mediante administración sistémica y

B) Modelos logrados mediante aplicación tópica.

La administración sistémica de convulsivantes se lleva al cabo mediante la inyección intravenosa o subdérmica de la sustancia. Este tipo de administración presenta la ventaja de que el agente excitatorio se distribuye a todas las regiones del cerebro, lo cual es de importancia sobre todo para fines de estudios neuroquímicos.

Entre los convulsivantes químicos más utilizados se pueden mencionar los siguientes, sin que las convulsiones producidas por su administración se consideren propiamente epilépticas.

a) Compuestos del grupo del alcanfor. Hay pocos informes acerca de este tipo de convulsivantes y su importancia es más bien de tipo histórico debido a que fueron las primeras sustancias utilizadas sistémicamente para la producción de convulsiones, hace aproximadamente 100 años (82).

b) Tetrazoles. El más común entre ellos es el pentilen-tetrazol (METRAZOL), que es altamente soluble y actúa sobre el cerebro en forma difusa, aunque la corteza cerebral es más susceptible a su efecto que otras regiones del cerebro. Se postula para el Metrazol una acción activadora sobre sinapsis excitatorias, potenciando la respuesta a estímulos más que iniciándola (26, 69).

c) El bemergide (MEGIMIDE), que pertenece al grupo de las glutarimidas y su acción es comparable a la del pentilen-tetrazol (38).

d) La picrotoxina, cuya acción se sugiere que es semejante a la del Metrazol, con la diferencia de que ésta es un poco más lenta (38).

e) Monofluoroacetatos. Estos compuestos en general bloquean varias vías metabólicas y el mecanismo por el cual producen convulsiones no está bien estudiado (62).

f) La metionina sulfoximina. Esta sustancia induce crisis convulsivas en animales de experimentación y la magnitud de las crisis varía de acuerdo a las dosis y a la especie animal utilizadas. Se sabe que inhibe la acción de ciertas enzimas en cerebro, como la glutamato-sintetasa y la alanino-transferasa (85); sin embargo la relación entre estos cam -

bios bioquímicos y el fenómeno convulsivo no está bien clara (80).

g) Existe un grupo de convulsivantes que afectan sistemas enzimáticos dependientes de fosfato de piridoxal; como ejemplo se menciona la 4-desoxipiridoxina. Estos agentes afectan de manera importante la producción de GABA y/o de la descarboxilasa del ácido glutámico, ya sea inactivando el fosfato de piridoxal o bien compitiendo con él por sitios activos. Como el GABA es un transmisor inhibitorio, la deficiencia de este metabolito provoca una facilitación de estímulos excitatorios y con ello las convulsiones (83, 96).

h) La bicuculina es un derivado de la ftalida-isoquinolina y se considera un antagonista del GABA. Su mecanismo de acción se supone como un bloqueo de sistemas inhibitorios que poseen GABA como transmisor (13, 16).

i) La estricnina es uno de los convulsivantes más conocidos y utilizados para la producción de convulsiones. Al parecer es un bloqueador de impulsos inhibitorios, actuando de tal manera que hace incapaz a la membrana postsináptica de responder ante la presencia del transmisor (glicina) o bien compitiendo con la glicina por los sitios de unión en la membrana postsináptica (15, 66, 76).

j) Muchas sustancias se incluyen dentro del grupo de los inhibidores de la colinesterasa, entre ellos se encuentran la fisostigmina y diversos compuestos organofosforados. Estas sustancias elevan las concentraciones de acetilcolina en el cerebro, probablemente disminuyendo su degradación (81). Se acepta que las convulsiones son inducidas por estos agentes mediante la acumulación de acetilcolina en las neuronas colinoceptivas (84).

Los modelos logrados mediante aplicación tópica tienen en común el afectar solamente una zona determinada de la corteza cerebral. Conviene señalar en este grupo los modelos por congelación y la aplicación tópica de drogas y metales.

a) Congelación. En esta técnica se utiliza una pequeña cápsula con hielo seco-acetona o bien cloruro de etilo en forma de aerosol. El tiempo de exposición varía de uno a dos minutos y los resultados son fenómenos electrofisiológicos "epilépticos" y menos frecuentemente actividad convulsiva clínica, ya sea focal o generalizada. Es interesante señalar la instauración rápida de los cambios electroencefalográficos y de las convulsiones. No es raro que existan descargas en focos homotópicos contralaterales (58). Entre los hallazgos anatomopatológicos se encuentran: edema, hiperemia, pre-

sencia de material PAS positivo en las capas superficiales de la corteza como en la sustancia blanca subyacente y se ha observado alteración de la barrera hematoencefálica mediante la técnica del azul de Evans; cuando la intensidad o el tiempo de congelación son excesivos : produce necrosis hemorrágica. En etapas finales se observa gliosis y cicatrización glial. Entre las alteraciones bioquímicas de la zona lesionada figuran la disminución del ácido glutámico, glutamina y glutatión y ciertas alteraciones enzimáticas entre las que destaca una variación en la actividad de la ATPasa dependiente de sodio y potasio (25). Este modelo ofrece las ventajas de poder observar rápidamente las crisis epilépticas y el encontrar focos contralaterales de descarga, aunque presenta el inconveniente de producir zonas muy edematizadas con gliosis y cicatrices terminales que le restan pureza.

b) Drogas y antagonistas metabólicos. Estas sustancias se utilizan tópicamente aplicándolas en la corteza cerebral en forma de solución salina, a una concentración y pH determinados. Este método presenta el problema de una posible dispersión hacia el interior de la corteza y hacia los lados. Para minimizar este inconveniente se han utilizado microinyecciones o la aplicación del compuesto mediante iontofore-

sis (54, 88). De este grupo los agentes más utilizados son la penicilina y la estricnina. En general, los focos epilépticos producidos por estas sustancias son agudos y presentan varias ventajas para el investigador, tales como la relativa facilidad para la preparación de las soluciones, la rapidez para montar el modelo y la ausencia de daños y cambios histológicos severos (67). Si bien es difícil encontrar en este grupo un modelo "ideal" para compararlo con la epilepsia humana, cada modelo brinda la oportunidad de estudiar algún aspecto de la descarga sincrónica por grupos de neuronas y los efectos de esta actividad sobre la función normal del cerebro.

c) Metales. Son múltiples los metales con que experimentalmente se han producido crisis epilépticas ya sea clínicas o subclínicas, estas últimas solamente detectables por electroencefalografía. Debido a que la metodología utilizada en nuestro trabajo consiste precisamente en el empleo de un derivado del aluminio, abordaremos en forma más amplia los modelos experimentales de epilepsia logrados mediante la aplicación tópica de metales.

El uso de metales en la producción de focos epilépticos fue iniciada por Kopeloff y colaboradores en 1942 con la a -

plicación de crema de alúmina en la corteza cerebral de monos(46); a partir de entonces son muchos los metales que se han utilizado con los mismos fines; sin embargo sólo destacan, además de la crema de alúmina, el cobalto y el ácido túngstico. El uso del cobalto fue introducido también por Kopeloff (45) y el ácido túngstico por Blum y Liban (9).

Método del cobalto. El cobalto se aplica tópicamente en dos formas: como polvo estéril (50-100 mg en 30-50 mm²) y como una película de gel de cobalto al 5%. Los animales de experimentación más comunmente utilizados son la rata, el ratón y el gato (22, 41, 45). La implantación del cobalto puro induce un proceso epiléptico activo. La evidencia de la actividad anormal electroencefalográfica aparece pocas horas después de la aplicación y los ataques clínicos se observan de 24 a 48 horas después. La historia natural del proceso convulsivo está poco documentada, pero es posible que solamente dure unos días, a pesar de que las anomalías electroencefalográficas puedan persistir después de varias semanas (22).

Histológicamente el cobalto induce un proceso necrotizante que destruye progresivamente todos los elementos celulares. El mecanismo de producción mediante el cual el cobalto causa los efectos epileptogénicos no se conoce con clari-

dad. Este modelo es útil para aquellos estudios que requie -
ran un proceso epiléptico subagudo, mas tiene el inconveniente
de que no puede ser utilizado para observaciones agudas.

Método del ácido túngstico. Solamente la forma coloidal
del ácido túngstico es biológicamente activa. El gel debe
mantenerse en refrigeración hasta el momento de su uso y se
aplica (0.01 ml) por medio de una inyección con una jeringa
fría. Se ha experimentado en diferentes estructuras nervio -
sas de la rata, el gato y el mono (9, 31, 71). Después de u -
na hora de la aplicación del gel aparecen alteraciones sensiti
vas y motoras dependiendo del sitio de la inyección. Si se
utilizan volúmenes controlados del gel, los ataques ocurren
durante aproximadamente 12 horas. Con grandes dosis, las conu
lsiones progresan hasta el "estado epiléptico" y el animal
muere (71).

Desde el punto de vista histológico, pocas horas des -
pués de la inyección se observa un área central de necrosis
aguda rodeada de neuronas picnóticas. Después de uno o dos
días se encuentra una cavidad encapsulada rodeada por una zona
de células inflamatorias, fibrina y gliosis (91). La venta
ja que ofrece el modelo del ácido túngstico es la induc -
ción de convulsiones en períodos cortos de tiempo. A diferente

cia del modelo de cobalto, es útil para estudios que requieren observaciones agudas.

Método de la crema de alúmina. La crema de alúmina es un gel de hidróxido de aluminio y para uso experimental puede obtenerse en preparados comerciales (AMPHOJEL, ALDROX) que contienen un 4% del hidróxido. En este caso, el método generalmente utilizado para la producción de focos epileptógenos consiste en la administración del compuesto en la corteza cerebral mediante una inyección, previa anestesia del animal y la trepanación del hueso en condiciones asépticas. El hidróxido de aluminio se esteriliza en autoclave y la inyección se lleva al cabo con una aguja del número 27, tratando de evitar lesiones por traumatismo. La crema de alúmina puede ser inyectada en el espacio subaracnoideo, intracorticalmente o en la sustancia blanca subcortical inmediata. Los animales más susceptibles a presentar focos epilépticos con la aplicación de este compuesto son los primates (47, 92). Aunque con mayor dificultad, se ha logrado producir focos epilépticos en otras especies animales como el gato, la rata y el perro (27, 36, 73, 86). Después de la aplicación tópica de crema de alúmina en la corteza motora las convulsiones espontáneas aparecen en un período de 35 a 60 días. Si se ha

inducido un foco epileptógeno por medio de varias aplicaciones, las manifestaciones clínicas pueden presentarse de dos a tres semanas después de dichas aplicaciones. Por el contrario, si el foco inducido es limitado, las manifestaciones clínicas pueden no observarse sino hasta 6 a 8 meses después de la aplicación. Las alteraciones electroencefalográficas ocurren antes de la aparición de las convulsiones. El patrón clínico de las convulsiones es característico de la localización de la lesión, como en la epilepsia humana focal (91).

Desde el punto de vista histológico los sitios de inyección contienen depósitos bien circunscritos de crema de alúmina, los cuales se rodean de gliosis astrocítica y áreas acelulares. En las zonas adyacentes hay una disminución de elementos neuronales y aumentan los componentes gliales (47, 87, 94). Ward señala que morfológicamente la despoblación neuronal y la gliosis astrocítica en el foco es la misma que la observada en cicatrices corticales humanas (91).

Este modelo presenta múltiples ventajas, de las cuales conviene señalar la economía, la rápida inducción, la fácil manipulación y el control de las variables. Debido al tiempo requerido después de la aplicación de la crema de alúmina para el inicio de la actividad electroencefalográfica y/o con-

vulsiva, el modelo no es útil cuando el objetivo es la producción aguda de convulsiones. Potencialmente, esta técnica posee muchas perspectivas de estudio, en virtud de que es susceptible de investigaciones anatómicas, farmacológicas, electrofisiológicas y bioquímicas de las diferentes estructuras nerviosas involucradas en el proceso epiléptico. Las convulsiones inducidas con el hidróxido de aluminio son espontáneas y recurrentes por períodos indefinidos, por lo cual el modelo de crema de alúmina en animales de laboratorio es probablemente el mejor sustituto del fenómeno convulsivo de origen cortical en el humano.

En un intento de abordar sistemáticamente el estudio experimental de epilepsia mediante la aplicación tópica de crema de alúmina, Velasco y colaboradores investigaron el efecto epileptogénico de esta sustancia inyectando dosis conocidas de un preparado comercial con un 4% de hidróxido de aluminio en sustancia blanca adyacente a la corteza cerebral motora de gatos, los cuales observaron durante aproximadamente 90 días (86). Las cantidades más pequeñas de crema de alúmina (0.005-0.01 ml) produjeron lesiones corticales mínimas sin ataques clínicos; cantidades mayores (0.1-0.15 ml) produjeron lesiones inflamatorias extensas y una variedad no pre-

dictible de manifestaciones eléctricas y clínicas ictales e interictales. Con una dosis de crema de alúmina de 0.02-0.04 ml, estos investigadores lograron un modelo experimental de epilepsia que posee las siguientes ventajas:

1) Lesiones confinadas a la corteza motora y substancia blanca subyacente sin cápsula fibrótica.

2) Se observaron ataques motores focales con un curso espontáneo, con tres estadios claramente delineados: latencia, convulsiones y remisión.

3) Descargas paroxísticas focales electroencefalográficas en la corteza motora perfectamente distinguibles de las que ocurren en otras áreas corticales y subcorticales.

4) Crisis convulsivas clínicas, motoras focales de características similares a las crisis jacksonianas en el humano que después se generalizaban.

En un segundo trabajo, los mismos autores informaron sobre las alteraciones histopatológicas en lesiones epileptogénicas producidas por microinyecciones de crema de alúmina en gatos sacrificados durante los estadios de latencia, convulsión y remisión. Además cuantificaron el espesor y la celularidad total de la corteza motora adyacente al sitio de lesión (87). En este estudio los autores citados encontraron

que los cambios histológicos en la zona de aplicación de la crema de alúmina fueron similares en los animales sacrificados en los tres estadios. Las lesiones mostraron un depósito central de macrófagos en el área lesionada, pocas células monucleadas, ausencia de cápsula fibrótica en la periferia de la lesión y pocas células inflamatorias en el tejido nervioso perilesional. Conviene llamar la atención en relación con estos hallazgos histopatológicos en virtud de que difieren considerablemente en algunos aspectos de los resultados descritos anteriormente por otros autores (89, 90). La corteza cerebral adyacente a las lesiones mostró una reducción progresiva del espesor y organización celular en los periodos de latencia, convulsión y remisión. Esta reducción fue más evidente en algunas regiones (circunvolución sigmoidea y área límbica) de las estudiadas. Al comparar el número total de neuronas dañadas en la corteza cerebral perilesional de los animales problema con los testigo, se observó una disminución progresiva de celularidad en los estadios de latencia, convulsión y remisión.

Con el objeto de describir los cambios ultraestructurales en la corteza cerebral motora adyacente a la zona de aplicación de crema de alúmina, Feria-Velasco y colaboradores

(30) llevaron al cabo un estudio de acuerdo con el modelo de epilepsia experimental en gatos previamente establecido

(86). Los animales inyectados se sacrificaron en los períodos de latencia, convulsión y remisión del modelo citado. El encéfalo fue fijado por perfusión intracarotídea con glutaraldehído y el material se trató para ser estudiado en el microscopio electrónico de transmisión. Los resultados manifestan también una disminución progresiva en el espesor y la celularidad de la corteza con un aumento en el número y tamaño de las prolongaciones astrocíticas y cambios degenerativos en botones terminales y prolongaciones dendríticas.

HIPOTESIS Y OBJETIVO

En base a los estudios de Penfield (63, 64) en modelos experimentales de producción de focos epileptógenos corticales se plantea la hipótesis siguiente:

Si al extirpar el foco epileptógeno cortical desaparecen las crisis convulsivas en los modelos experimentales de epilepsia motora focal se puede pensar que existe un desequilibrio entre las excitaciones e inhibiciones en la corteza misma.

Se ha demostrado que las células nerviosas de la segunda y cuarta capas de la corteza motora son de cilindroeje corto y principalmente inhibitorias (56). De acuerdo con esto resulta importante hacer un estudio cuidadoso de celularidad por capas de la corteza cerebral motora adyacente a la zona de aplicación de crema de alúmina en un modelo experimental previamente establecido (86).

El objeto del presente trabajo es hacer medición diferencial del espesor y el cálculo de la celularidad por capas de la corteza motora en las diferentes fases de un modelo de epilepsia motora focal producida experimentalmente por inyección intracerebral de crema de alúmina.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 24 gatos de ambos sexos de aproximadamente 2.5 Kg de peso y se dividieron en dos grupos:

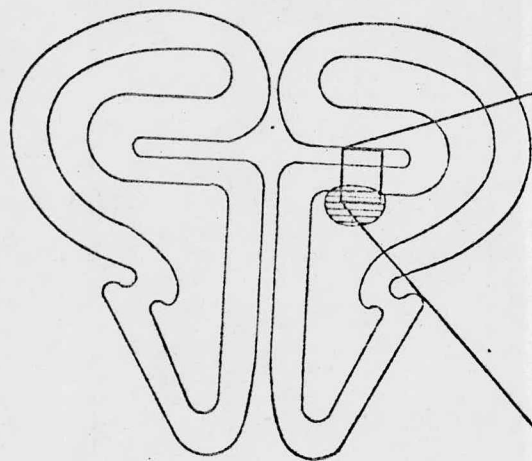
1.- Animales testigo. A 6 animales bajo anestesia general inducida con pentobarbital sódico intraperitoneal se les practicó craneotomía frontal, se hizo incisión de la duramadre y se colocó una placa de acrílico antes de suturar cuero cabelludo. Estos animales se sacrificaron 40 días después de la intervención quirúrgica.

2.- Animales inyectados con crema de alúmina. A 18 animales anestesiados con pentobarbital sódico intraperitoneal se les practicó craneotomía frontal y se inyectó 0.02-0.04 ml de una preparación comercial de crema de alúmina (ALDROX) en la circunvolución sigmoidea anterior estereotáxicamente, de acuerdo con un modelo previamente establecido (86). Se colocaron electrodos de plata sobre la superficie dural para la obtención de registros electroencefalográficos que sirvieran de referencia en las tres etapas del modelo: período de latencia, período de convulsiones y período de remisión. Se sacrificaron 6 animales en cada uno de estos tres períodos, a los 10, 40 y 80 días respectivamente después de la inyección de crema de alúmina.

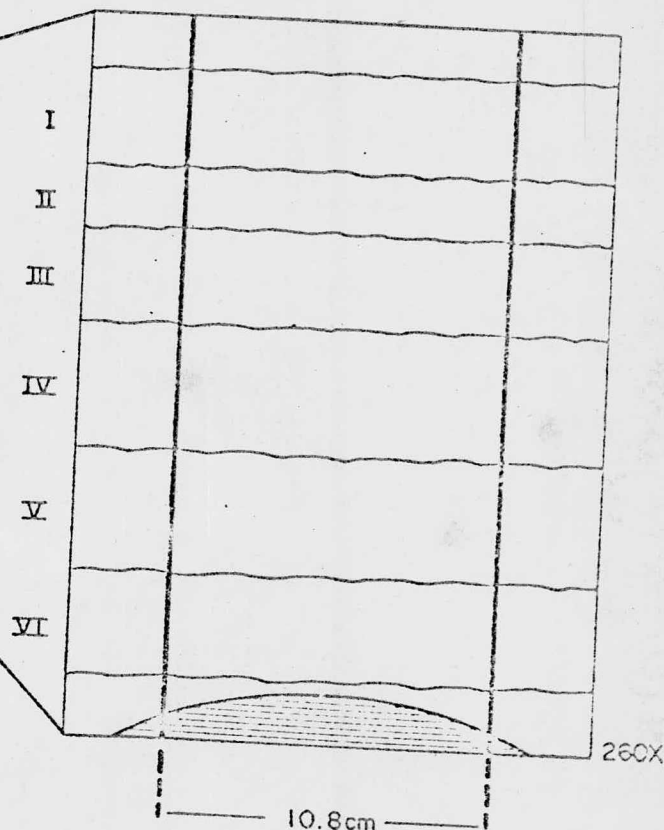
Para la obtención de las muestras todos los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico intraperitoneal y fijados por perfusión intravascular vía arterias carótidas primitivas. Se utilizaron las venas yugulares anteriores como vía de salida de las soluciones perfundidas. La perfusión se inició con una solución lavadora de Ringer-fosfato-bicarbonato, pH 7.4 y osmolaridad de 300 mOsm/l a la que se había agregado clorhidrato de procaína (1 g/l) y heparina sódica (1000 U/l). Esta solución se perfundió a 140 cm de agua de presión a temperatura ambiente durante 3 minutos. Se continuó la perfusión con formaldehído al 4% en solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.1 M, pH 7.4 y una osmolaridad de 450 mOsm/l durante 25 minutos, a la misma presión y temperatura que la solución lavadora (28). Después de practicar craneotomía se extrajo el encéfalo completo para identificar con precisión la zona lesionada y obtener los fragmentos de la corteza cerebral motora adyacente a la misma, así como de la corteza cerebral motora contralateral. Los fragmentos obtenidos se colocaron en la solución amortiguada de formaldehído al 4% a 4 °C durante una hora y se lavaron en agua corriente de 4 a 6 horas para ser incluidos en parafina. Se obtuvieron en microtomo cortes de 10 micras de espesor y se ti

fieron con hematoxilina-eosina y de acuerdo con la técnica de Klüver-Barrera (44).

Las preparaciones se examinaron en un microscopio de luz transmitida y se tomaron microfotografías que al ser amplificadas e impresas en papel resultaron aumentadas en 260 diámetros. Sobre estas fotografías se hicieron las mediciones de espesor de las capas corticales y la cuenta de células nerviosas por capa. La cuenta de células se hizo en una zona constante de 10.8 cm sobre la fotografía que correspondía a 0.4154 mm de corteza cerebral (Fig. 1). Para expresar las cuentas en número de células nerviosas por capa de corteza cerebral bajo un área de 1 mm² de superficie pial, los datos obtenidos de las fotografías se multiplicaron por un factor constante de 240.7. Con estos datos se obtuvieron las medias y los errores estándar para cada una de las capas corticales y en cada uno de los períodos del modelo experimental. El grado de significancia de los datos obtenidos se calculó en base a la prueba de "t" de Student (53). Esto fue solamente posible realizar en el material de los animales tésigo y en el correspondiente al tejido cortical adyacente a la zona de aplicación de crema de alúmina en los animales sacrificados en período de latencia y de convulsiones así como



CORTE CORONAL A NIVEL
DE CIRCUNVOLUCION
SIGMOIDEA ANTERIOR.



(10.8 cm SOBRE FOTOGRAFIA A 260X = 0.4154mm DE CORTEZA CEREBRAL).

Figura I. REPRESENTACION DE LA ZONA DE APLICACION DE CREMA DE ALUMINA
Y DEL AREA SOBRE LA QUE SE EFECTUO LA MEDICION DE ESPESOR
Y CELULARIDAD EN LAS CAPAS DE CORTEZA MOTORA.

en la corteza motora contralateral de todos los animales inyectados. En el material obtenido de los animales en período de remisión no fue posible hacer la cuenta diferencial por capas debido al grado de destrucción tisular que impedía delimitar las diferentes capas corticales.

Los datos porcentuales obtenidos de los cálculos de espesor y celularidad se expresaron en gráficas y en éstas se determinaron las pendientes de los cambios en cada capa mediante el método de los cuadrados mínimos, tomando como puntos de referencia las medias expresadas en por ciento y como base la escala establecida en cada gráfica.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la medición y la cuantificación del espesor y la celularidad totales de la corteza motora de los animales inyectados con crema de alúmina mostraron una disminución progresiva según la etapa en que fueron sacrificados al compararse con los valores encontrados en los animales testigo. Se observó una disminución progresiva del espesor y la celularidad total de la corteza motora adyacente a la zona de aplicación de la crema de alúmina que fue más notable en las fases de convulsiones y sobre todo en la de remisión (TABLA II).

Al medir el espesor de cada una de las capas se observó en genral una disminución progresiva conforme avanzaban cronológicamente las etapas del modelo, a excepción de las capas V y VI (TABLA III). La disminución en el espesor de las capas corticales fue más significativa en las capas II y IV.

De la misma manera se encontró una disminución en el número de células en cada una de las capas, según se tratara de los diferentes períodos del modelo. Cuando se consideró este parámetro las diferencias fueron muy significativas para las capas II, IV y VI . No obstante que se observó una disminución progresiva de la celularidad en las capas I y so

TABLA II. ESPESOR Y CELULARIDAD DE CORTEZA MOTORA ADYACENTE

A LA ZONA DE APLICACION DE CREMA DE ALUMINA.

		ESPESOR (micras)	CELULARIDAD (neuronas en corteza motora debajo de un área de 1 mm ² de superficie pial)
TESTIGOS *		1 735 ± 55	1 346 218.0 ± 201 932.7
CREMA DE ALUMINA	LATENCIA (6)	1 321 ± 60 ^a	1 076 976.3 ± 134 621.8
	CONVULSION (6)	1 250 ± 55	693 302.3 ± 100 966.4 ^b
	REMISION (6)	915 ± 22 ^c	370 209.9 ± 107 697.4 ^c

Los resultados se expresan en medias ± error estándar de las medias.

* Este grupo incluye las muestras de animales testigo y las de corteza contralateral de los animales inyectados con crema de alúmina.

Los números entre paréntesis representan el número de animales estudiados por grupo.

^a Diferencia significativa comparado con el grupo testigo.

^b Diferencia significativa comparado con el grupo de latencia.

^c Diferencia significativa comparado con el grupo de convulsión.

Las comparaciones están hechas con una (p) < 0.05 .

TABLA III. ESPESOR POR CAPA DE CORTEZA MOTORA ADYACENTE
A LA ZONA DE APLICACION DE CREMA DE ALUMINA.

CAPA	TESTIGOS *	CREMA DE ALUMINA		
		LATENCIA (6)	CONVULSION (6)	REMISION ** (6)
I	270 $\pm$ 12	265 $\pm$ 14	230 $\pm$ 12	---
II	173 $\pm$ 9	134 $\pm$ 10 a	85 $\pm$ 11 b	---
III	270 $\pm$ 11	255 $\pm$ 12	195 $\pm$ 15 b	---
IV	346 $\pm$ 15	192 $\pm$ 18 a	120 $\pm$ 9 b	---
V	365 $\pm$ 16	327 $\pm$ 14 a	365 $\pm$ 13 b	---
VI	307 $\pm$ 13	237 $\pm$ 10 a	257 $\pm$ 11 a	---

Los resultados corresponden a las medias $\pm$ error estándar de las medias y se expresan en micras.

* Este grupo incluye las muestras de animales testigo y las de corteza contralateral de los animales inyectados con crema de alúmina.

** En esta etapa no fue posible hacer la delimitación por capas.

Los números entre paréntesis representan el número de animales estudiados por grupo.

a Diferencia significativa comparado con el grupo testigo.

b Diferencia significativa comparado con el grupo de latencia.

Las comparaciones están hechas con una $(p) < 0.05$.

TABLA IV. CELULARIDAD POR CAPA DE CORTEZA MOTORA ADYACENTE
A LA ZONA DE APLICACION DE CREMA DE ALUMINA.

CAPA	TESTIGOS *	CREMA DE ALUMINA		
		LATENCIA (6)	CONVULSION (6)	REMISION ** (6)
I	121 751.0 $\pm$ 21 894.4	120 792.4 $\pm$ 12 440.0	106 411.7 $\pm$ 8 708.0	---
II	274 809.4 $\pm$ 23 636.0	113 324.4 $\pm$ 14 928.1 ^a	60 495.7 $\pm$ 15 004.4 ^b	---
III	233 066.2 $\pm$ 21 521.2	210 236.0 $\pm$ 21 148.0	173 886.3 $\pm$ 15 301.2	---
IV	344 381.4 $\pm$ 23 884.8	286 368.8 $\pm$ 22 640.8	128 007.6 $\pm$ 15 550.0 ^b	---
V	177 408.6 $\pm$ 19 406.4	174 782.0 $\pm$ 19 282.0	151 146.0 $\pm$ 18 908.8	---
VI	194 801.6 $\pm$ 21 148.0	108 476.8 $\pm$ 22 392.0 ^a	55 980.0 $\pm$ 14 912.0 ^a	---

Los resultados corresponden a las medias $\pm$ error estándar de las medias y se expresan en número de neuronas por debajo de un área de 1 mm² de superficie pial.

* Este grupo incluye las muestras de animales testigo y las de la corteza contralateral de los animales inyectados con crema de alúmina.

** En esta etapa no fue posible hacer la delimitación por capas.

Los números entre paréntesis representan el número de animales estudiados por grupo.

^a Diferencia significativa comparado con el grupo testigo.

^b Diferencia significativa comparado con el grupo de latencia.

Las comparaciones están hechas con una (p) < 0.05 .

bre todo en la III y en la V, en ninguna de estas capas la disminución fue significativa al compararse con los datos de las capas II, IV y VI (TABLA IV).

Es importante señalar que en la fase de remisión la celularidad total estaba muy disminuída y a pesar de no poder hacer la demarcación por capas debido a la distorsión tisular, se notó claramente la ausencia de células piramidales tanto pequeñas como grandes.

Los resultados anteriores se encuentran gráficamente representados en las figuras 2 y 3 . Al calcularse las pendientes para cada una de las capas, las variaciones más notables fueron observadas en las capas II y IV para el espesor (Fig. 2) y en las capas II, IV y VI en el caso de la gráfica de celularidad (Fig. 3).

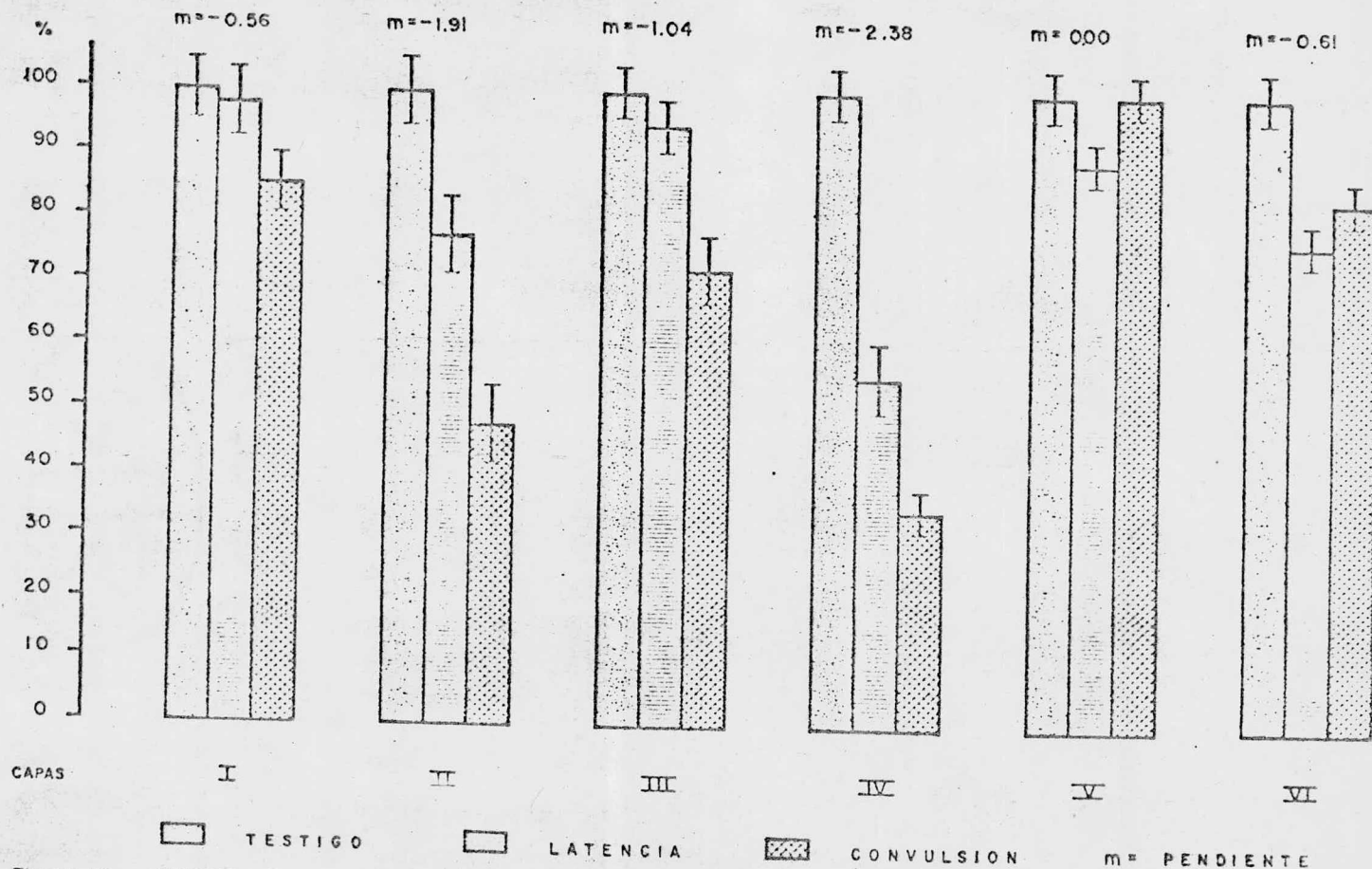


Figura 2. ESPESOR POR CAPA DE CORTEZA MOTORA ADYACENTE A LA ZONA DE APLICACION DE CREMA DE ALUMINA. Los valores representan las medias $\pm$ error estndar de las medias expresados en por ciento.

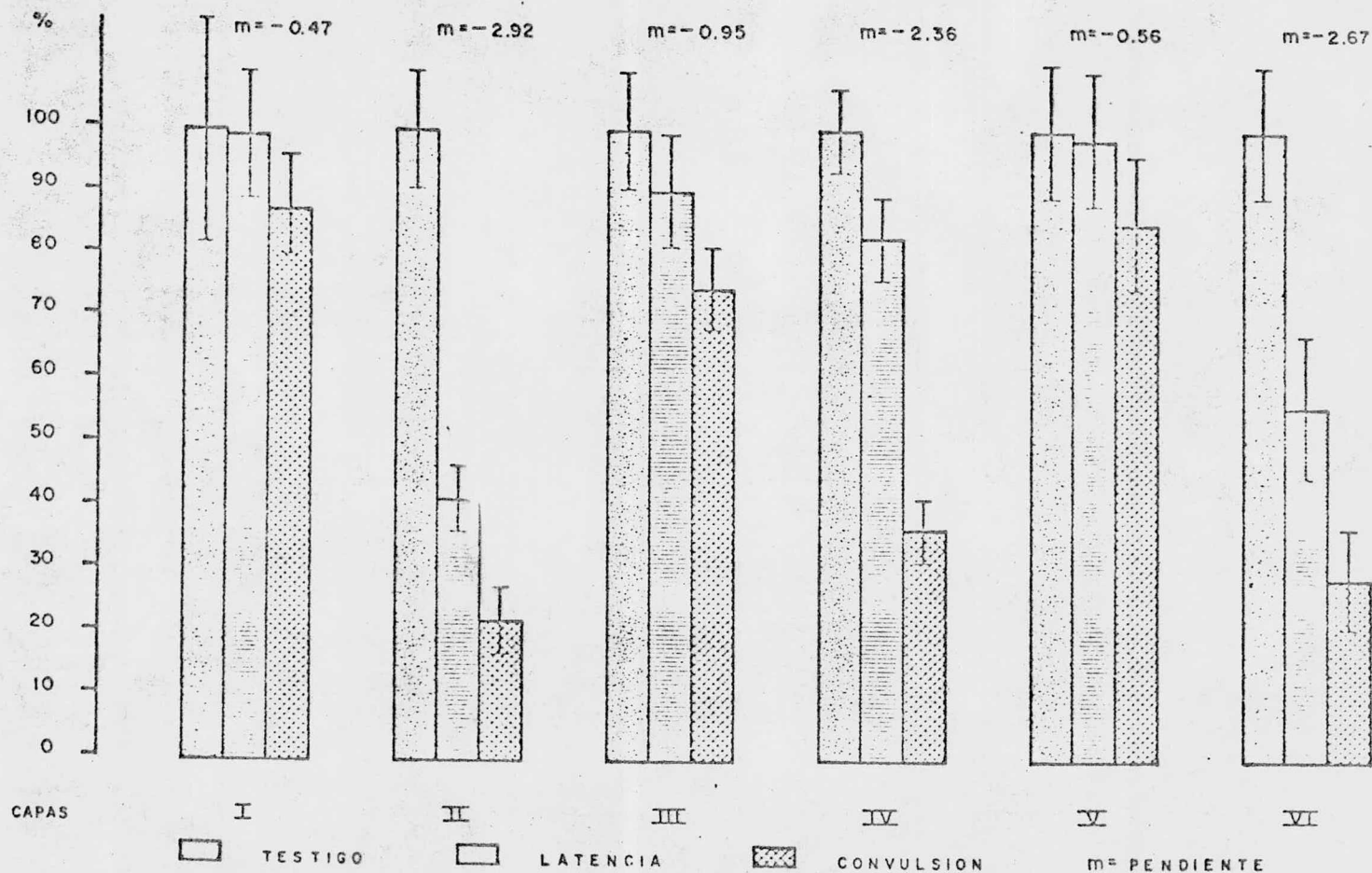


Figura 3. CELULARIDAD POR CAPA DE CORTEZA MOTORA ADYACENTE A LA ZONA DE APLICACION DE CREMA DE ALUMINA. Los valores representan las medias $\pm$ error estndar de las medias expresados en por ciento.

DISCUSION

Nuestros resultados concuerdan con los encontrados por otros autores (30, 87) en relación con la disminución progresiva en el espesor y la celularidad totales de la corteza pe rilesional al considerar las diferentes etapas del modelo; sin embargo no existen en la literatura informes acerca de la evaluación diferencial por capas de los parámetros señalados.

En relación con los resultados de la medición de espe sor por capas, en el presente trabajo, es interesante señalar que no se encuentran diferencias significativas entre los datos de los testigos y aquéllos de los animales sacrificados en el período de latencia para las capas I y III y aun en período convulsivo para la capa V .

En el análisis estadístico de la cuantificación de la celularidad por capas de la corteza motora, resultaron signi ficativas las diferencias en las capas II, IV y VI para todas las comparaciones hechas. Las capas I, III y V no mostraron cambios significativos en ninguna de las etapas del mode lo. Esto sugiere que a pesar de que existe una disminución progresiva en las células de la corteza cerebral motora en el modelo experimental empleado, en las fases iniciales, es-

ta disminución parece ser más selectiva en las capas II, IV y VI . Esta disminución en celularidad constituye, así, un factor muy importante en la disminución del espesor de las capas corticales en esas mismas fases, pero principalmente en lo que concierne a las capas II y IV .

Existen estudios morfofisiológicos que demuestran la existencia de neuronas fundamentalmente inhibitorias en las capas II y IV de la corteza motora, las cuales al estudiarse con las técnicas de impregnación metálica se identifican como neuronas de cilindroeje corto (de Golgi tipo II) (56). Esos datos están de acuerdo con los comunicados por otros autores que señalan la naturaleza inhibitoria de interneuronas de Golgi tipo II en otras regiones del sistema nervioso central, como de la médula espinal (5) y el cerebelo (11, 18).

Es muy importante señalar que en el modelo experimental de epilepsia motora focal considerado en el presente trabajo, se hace aparente una sensibilidad mayor de las neuronas de las capas II y IV, así como de la capa VI al efecto citotóxico de la crema de alúmina, en tanto que las células nerviosas de las capas I, III y V se destruyen posteriormente de manera que en la fase de remisión se observa una despoblación celular en todas las capas de la corteza motora. Estos

datos encuentran apoyo en los resultados de Aprison y Wer - man, en que al producir una condición de hipoxia temporal en la médula espinal lumbosacra por ligadura transitoria de la aorta torácica, encontraron una gran disminución de las interneuronas de Golgi tipo II periacueductales; mientras que la disminución de las neuronas de Golgi tipo I (de cilindro-eje largo) no fue significativa (5). Estos autores en sus es tudios realizaron determinaciones bioquímicas de glicina (su puesto neurotransmisor inhibitorio en médula espinal (14, 17)) y encontraron una estrecha relación entre la disminu - ción de este aminoácido y la disminución de interneuronas de Golgi tipo II en esos segmentos espinales.

Por otro lado, algunos autores en estudios fisiológicos, en experimentos de sueño y vigilia han demostrado que existe un campo de inhibición sobre las neuronas piramidales donde se origina la vía motora voluntaria (79). Este campo de inhi bición puede estar determinado por fibras ascendentes inhibi torias provenientes de estructuras subcorticales o por impul sos inhibitorios de las interneuronas de Golgi tipo II en la misma corteza cerebral, como se ha demostrado en estudios de impregnación metálica. Estas interneuronas pueden ser activa das por fibras excitatorias que ascienden de estructuras sub corticales (núcleos talámicos principalmente) (68, 78) o por

fibras recurrentes de las propias células del haz piramidal (79).

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo y haciendo correlación con los datos obtenidos en trabajos previos por Velasco y colaboradores (86, 87) y Feria-Velasco y colaboradores (30) empleando el mismo modelo de epilepsia experimental se puede concluir lo siguiente:

En el modelo de epilepsia motora focal producida experimentalmente con inyección intracerebral de crema de alúmina, el mecanismo de producción de las convulsiones parece ser un desequilibrio entre las inhibiciones y excitaciones en la corteza motora adyacente al sitio de lesión condicionado por una disminución selectiva inicial de interneuronas inhibitorias por efecto citotóxico del hidróxido de aluminio empleado. De esta manera, se explica cómo progresivamente van aumentando los cambios electroencefalográficos de ondas epilépticas (86) hasta llegar a un número umbral en que se presentan convulsiones clínicas. Esto explicado por la liberación de las facilitaciones intracorticales al desaparecer el campo de inhibición determinado por las interneuronas inhibitorias intracorticales. Debido a que el material inyectado per

manece en ese lugar, sigue teniéndose el efecto citotóxico que ahora también afecta a las células piramidales de las capas III y V, las cuales progresivamente van disminuyendo en número hasta quedar la corteza motora con tal distorsión que no es posible hacer demarcación de capas ni identificación de tipos celulares. Esto explicaría la disminución progresiva a partir de los 45 días de las espigas electroencefalográficas, la desaparición de las convulsiones clínicas y la completa desaparición de los fenómenos epilépticos en el electroencefalograma en la etapa de remisión del modelo.

Aún queda por estudiarse la participación que los cambios en los elementos gliales puedan tener entre los factores involucrados en los mecanismos de producción de convulsiones en este modelo. Otro factor que ha sido sugerido por varios autores y que no ha sido posible descartar aún es la desaferentación de células corticales(94) y requiere de estudios sistematizados de impregnaciones metálicas en correlación con registros electrofisiológicos. Sería también muy interesante realizar investigaciones bioquímicas para neurotransmisores ya sea en la corteza motora completa o microdeterminaciones analíticas en las capas de corteza motora adyacente a la lesión, con un estudio ultraestructural correlati

vo encaminado a la identificación de botones sinápticos degenerados en las capas III y V en las fases iniciales del modelo.

RESUMEN

Con el objeto de medir y cuantificar el espesor y la celularidad totales y por capas de la corteza cerebral motora adyacente a la zona de aplicación de crema de alúmina se inyectó ésta intracerebralmente en 18 gatos de acuerdo a un modelo experimental de epilepsia previamente establecido. Los animales se dividieron en tres grupos para ser sacrificados en los períodos de latencia, convulsión y remisión del modelo citado. El grupo testigo lo constituyeron 6 animales, a los que no se les administró crema de alúmina. En todos los casos la corteza cerebral se fijó in situ con formaldehído por perfusión intravascular. Las muestras fueron incluidas en parafina, cortadas en microtomo y teñidas con colorantes de anilina para ser estudiadas en el microscopio de luz transmitida.

Los resultados ponen de manifiesto una disminución progresiva en los dos parámetros referidos en las etapas de latencia, convulsión y remisión al compararse con los resultados obtenidos en el grupo testigo. En las fases iniciales (latencia y convulsión) la disminución en el espesor y la celularidad fue estadísticamente significativa en las capas II, IV y VI de la corteza motora, mientras que en la etapa final

(remisión) todas las capas de la corteza se observaron lesionadas, de tal manera que no fue posible efectuar las evaluaciones diferenciales.

Con estos datos se sugiere que el hidróxido de aluminio por efecto citotóxico lesiona inicialmente interneuronas inhibitorias, lo que determina una liberación de las facilitaciones corticales, en base a una sensibilidad selectiva de las neuronas de cilindroeje corto.

Se comenta esta disminución selectiva en ciertas capas de la corteza cerebral de acuerdo a la etapa del modelo, la cual podría explicar las manifestaciones electroencefalográficas y clínicas en cada uno de los períodos y se discute su posible papel en la alteración del equilibrio entre excitaciones e inhibiciones en la corteza cerebral motora como probable mecanismo del origen de las convulsiones en este modelo experimental.

REFERENCIAS

- 1) ABOOD, L. G. Excitation and Conduction in the Neuron.
En: Basic Neurochemistry, ALBERS, R. W., SIEGEL, G. J.,
KATZMAN, R. y AGRANOFF, B. W., editores. Little, Brown
and Company. pp. 41-44 . Boston, 1972 .
- 2) ABOOD, L. G. Interrelationships between phosphates and
calcium in bioelectric phenomena. Int. Rev. Neurobiol.
9: 233, 1966 .
- 3) ADAMS, R. D. Convulsiones Recurrentes. En : Tratado de
Medicina Interna de Harrison. 2a. Ed. La Prensa Médica
Mexicana. pp. 253-263 . México, 1956 .
- 4) ADRIAN, R. H. y SLAYMAN, C. L. Membrane potential and
conductance during transport of sodium, potassium and
rubidium in frog muscle. J. Physiol. 184: 971, 1966 .
- 5) APRISON, M. H. y WERMAN, R. A. A Combined Neurochemical
and Neurophysiological Approach to Identification of
Central Nervous System Transmitters. En: Neurosciences
Research, EHRENPREIS, S. y SOLKITSKY, O. C., editores.
Vol. 1 . Academic Press. pp. 143-174 . New York, 1968 .

- 6) ARMSTRONG, W. McD. The Cell Membrane and Biological Transport. En: Physiology, SELKURT, E. E., editor. Little, Brown and Company. pp. 19-33. Boston, 1976 .
- 7) BAIRD, H. W. Convulsiones Crónicas o Recidivantes. En: Tratado de Pediatría. Tomo II, NELSON, W. E., VAUGHAN, V. C. y McKAY, R., editores. Salvat Editores. pp. 1285-1288 . México, 1971 .
- 8) BARR, M. L. El Sistema Nervioso Humano. Un Punto de Vista Anatómico. Harper and Row Latinoamericana, S.A. de C. V. pp. 8-9 . México, 1973 .
- 9) BLUM , B. y LIBAN, E. Experimental baso-temporal epilepsy in the cat. Discrete epileptogenic lesions produced in the hippocampus or amygdaloid by tungstic acid. Neurology 10: 546, 1960 .
- 10) BRAIN, L. R. Neurología Clínica. Editorial Marín. pp. 119-121. Barcelona, 1964 .
- 11) BROWN, W. J. y PALAY, S. L. Acetylcholinesterase activity in certain glomeruli and Golgi cells of the granular layer of the rat cerebellar cortex. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 137: 317, 1972 .

- 12) CASO, A. Neurología Clínica. 2a. Ed. Editorial Interamericana. pp. 241-250 . México, 1965 .
- 13) CURTIS, D. R., DUGGAN, A. W., FELIX, D., JOHNSTON, G. A. R. y McLENNAN, H. Antagonism between bicuculline and GABA in the cat brain. Brain Res. 33: 57, 1971 .
- 14) CURTIS, D. R., DUGGAN, A. W. y JOHNSTON, G. A. R. Glycine, strychnine, picrotoxin and spinal inhibition. Brain Res. 14: 759, 1969 .
- 15) CURTIS, D. R., DUGGAN, A. W. y JOHNSTON, G. A. R. The specificity of strychnine as a glycine antagonist in the mammalian spinal cord. Exp. Brain Res. 12: 547, 1971 .
- 16) CURTIS, D. R. y FELIX, D. The effect of bicuculline upon synaptic inhibition in the cerebral and cerebellar cortices of the cat. Brain Res. 34: 301, 1971 .
- 17) CURTIS, D. R., HOBLI, L. y JOHNSTON, G. A. R. A pharmacological study of the depression of spinal neurones by glycine and related aminoacids. Exp. Brain Res. 6: 1, 1968 .
- 18) CHAN-PALAY, V. y PALAY, S. L. Tendril and glomerular

collaterals of climbing fibers in the granular layer of the rat's cerebellar cortex.

Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 133: 247, 1971 .

- 19) CHUSID, J. G. y McDONALD, J. J. Neuroanatomía Correlativa y Neurología Funcional. El Manual Moderno. pp. 398-399 . México, 1968 .
- 20) DE ROBERTIS, E. D. P., SAEZ, F. A. y DE ROBERTIS, E. M. F. Jr. Cell Biology. 6a. Ed. W. B. Saunders Company. p. 472 . Philadelphia, 1975 .
- 21) DICCIONARIO MEDICOBIOLOGICO UNIVERSITY. Editorial Interamericana. p. 249. México, 1966 .
- 22) DOW, R. S., FERNANDEZ-GUARDIOLA, A. y MANNI, E. The production of experimental cobalt epilepsy in the rat. Electroencephalography and Clinical Neurophysiol. 14: 399, 1962 .
- 23) ECCLES, J. C. The Understanding of the Brain. McGraw-Hill Book Company. pp. 15-18. New York, 1973 .
- 24) ECCLES, J. C. The Understanding of the Brain. McGraw-Hill Book Company. pp. 69-82. New York, 1973 .

- 25) ESCUETA, A. V. y REILLY, E. L. The effects of diphenylhydantoin on potassium transport within synaptic terminals of the epileptogenic foci. *Neurology* 21: 418, 1971.
- 26) ESPLIN, D. W. y ZABLOCKA-ESPLIN, B. Mechanisms of Actions of Convulsivants. En: *Basic Mechanisms of Epilepsies*, JASPER, H. H., WARD, A. A., Jr. y POPE, A., editores. Little, Brown and Company. pp. 167-183 . Boston, 1969 .
- 27) ESSIG, C. F. Focal convulsions during barbiturate abstinence in dogs with cerebrocortical lesions. *Psychopharmacologia* 3: 432, 1962 .
- 28) FERIA-VELASCO, A. y KARNOVSKY, M. J. Preservación óptima del sistema nervioso central por perfusión con glutaraldehído para estudio ultraestructural. *Arch. Invest. Med.* 1: 201, 1970 .
- 29) FERIA-VELASCO, A., SANCHEZ-DE-LA-PEÑA, S. y MAGDALENO, V. Labeling of electrical surface charges at synaptosomal membrane: an electron cytochemical and biochemical study. *Brain Res.* 112: 214, 1976 .
- 30) FERIA-VELASCO, A., VELASCO, M. y VELASCO, F. Estudio ul

traestructural de la corteza cerebral motora en epilepsia producida experimentalmente con crema de alúmina en gatos. Arch. Invest. Med. 5: 1, 1974 .

- 31) FISCHER, J., HOLUBAR, J. y MALIK, V. A new method of producing chronic epileptogenic cortical foci in rats. Physiologica Bohemoslovaca 16: 272, 1967 .
- 32) GIESE, A. C. FISILOGIA GENERAL. Estructura y Dinámica Celular. 3a. Ed. Editorial Interamericana. pp. 271 - 272 . México, 1968 .
- 33) GIESE, A. C. FISILOGIA GENERAL. Estructura y Dinámica Celular. 3a. Ed. Editorial Interamericana. pp. 453 - 454 . México, 1968 .
- 34) GLASER, G. H. Epilepsias. En: Tratado de Medicina Interna de Cecil-Loeb, BEESON, P. B. y McDERMOTT, W., editores. 13a. Ed. Interamericana. p. 276 . México, 1972 .
- 35) GLASER, G. H. Experimental Derangements of Extracellular Ionic Environment. En: Experimental Models of Epilepsy. A Manual for the Laboratory Worker. PURPURA, D. P., PENRY, J. K., TOWER, D., WOODBURY, D. M. y WALTER, R., editores. Raven Press, Publishers. pp. 318-

320 . New York, 1972 .

- 36) GUERRERO-FIGUEROA, R., BARROS, A., DE BALBIAN VERSTER, F. y HEATH, R. G. Experimental "petit mal" in kittens. Arch. Neurol. 9: 297, 1963 .
- 37) GUYTON, A. C. Tratado de Fisiología Médica. 4a. Ed. Editorial Interamericana. pp. 42-71 . México, 1971 .
- 38) HAHN, F. Analeptics. Pharmacological Rev. 12: 447, 1960 .
- 39) HAM, A. W. Tratado de Histología. 6a. Ed. Editorial Interamericana. pp. 54-55. México, 1970 .
- 40) HARPER, H. A. Review of Physiological Chemistry. 13a. Ed. Lange Medical Publications. pp. 394-395. Los Altos, Ca., 1971 .
- 41) HENJYOJI, E. Y. y DOW, R. S. Cobalt-induced seizures in the cat. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology 19: 152, 1965 .
- 42) HODGKIN, A. L. y HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol. 117: 500, 1952.

- 43) JOHNS, R. J. y MAGLADERY, J. W. Seizures. En: The Principles and Practice of Medicine, HARVEY, A. McG., CLUFF, L. E., JOHNS, R. J. OWENS, A. H., RABINOWITZ, D. y ROSS, R. S., editores. Appleton-Century-Crofts. pp. 1221 - 1222. New York, 1968 .
- 44) KLUVER, H. y BARRERA, E. A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. J. Neuropath. Exp. Neurol. 12: 400, 1953 .
- 45) KOPELOFF, L. M. Experimental epilepsy in the mouse. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104: 500, 1960 .
- 46) KOPELOFF, L. M., BARRERA, S. E. y KOPELOFF, N. Recurrent convulsive seizures in animals produced by immunologic and chemical means. Am. J. Psychiatry 98: 881, 1942 .
- 47) KOPELOFF, L. M., CHUSID, J. G. y KOPELOFF, N. Epilepsy in Macaca mulatta after cortical or intracerebral alumina. Arch. Neurol. Psychiatry 74: 523, 1955 .
- 48) KUFFLER, S. W. y NICHOLLS, J. G. Physiology of neuroglia cells. Ergeb. Physiol. 57: 1, 1966 .
- 49) LARRABEE, M. G. y POSTERNAK, J. M. Selective actions of

anesthetics on synapses and axons in mammalian sympathetic ganglia. J. Neurophysiol. 15: 91, 1952 .

- 50) LEHNINGER, A. L. Biochemistry. Worth Publishers, Inc. pp. 623-625. New York, 1970 .
- 51) LEHNINGER, A. L. The neuronal membrane. Proc. Nat. Acad. Sci. 60: 1069, 1958 .
- 52) LEWIN, E. y MCCRIMMON, A. The intralaminar distribution of sodium-potassium-activated ATPase activity in discharging cortical lesions induced by freezing. Brain Res. 8: 291, 1968 .
- 53) LEWIS, A. E. Bioestadística. Compañía Editorial Continental. pp. 64-73 y 101-103 . México, 1966 .
- 54) LUX, H. D., LORACHER, C. y NEHER, E. The action of ammonium on postsynaptic inhibition of cat spinal motoneurons. Exp. Brain Res. 11: 431, 1970 .
- 55) MARCUS, E. M. Experimental Models of Petit Mal Epilepsy. En: Experimental Models of Epilepsy. A Manual for the Laboratory Worker, PURPURA, D. P., PENRY, J. K., TOWER, D., WOODBURY, D. M. y WALTER, R., editores. Raven Press,

Publishers. p. 115 . New York, 1972 .

- 56) MARIN-PADILLA, M. Origin of the pericellular baskets of the pyramidal cells of the human motor cortex . A Golgi study . Brain Res. 14: 633, 1969 .
- 57) MARTINEZ-SANDOVAL, F. Neuroanatomía Humana. 6a, Ed. Universidad Autónoma de Guadalajara. p. 27 . México, 1974.
- 58) MORELL, F. Secondary epileptogenic lesions. Epilepsia 1: 538, 1960 .
- 59) MULLER, P. y RUDIN, D. O. Bimolecular Lipid Membranes Techniques of Formation, Studies of Electrical Properties and Induction of Ionic Gating Phenomena. En: Laboratory Techniques in Membrane Biophysics, PASSOW, H. y STAMPFLI, R., editores. Spriger-Verlag. p. 141. Berlín, 1969 .
- 60) OCHS, S. General Properties of Nerve. En: Physiology, SELKURT, E. E., editor. Little, Brown and Company, pp. 39-59 . Boston, 1976 .
- 61) OLIVARES, L., BARRIGA, R., CAMACHO, R. y TRACONIS, M. La Epilepsia en México. Salud Pub. de Mex. 14: 365, 1972.

- 62) PATEL, A. y KOENIG, H. Some neurochemical aspects of fluorocitrate intoxication. J. Neurochem. 18: 621, 1971.
- 63) PENFIELD, W. y JASPER, H. Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain. Little, Brown and Company, p. 896 . Boston, 1954 .
- 64) PENFIELD, W. y HUMPHREYS, S. Epileptogenic lesions of the brain. An histologic study. Arch. Neurol. 43: 240 , 1940.
- 65) POIRE, R. Hypoglycemic Epilepsy: Clinical, Electrographic and Biological Study During Induced Hypoclycemia in Man . En: The Physiopathogeneseis of the Epilepsies, GESTATUT, H., JASPER, H., BECAUD, J. y WALTREGNY, A. editores. Charles C. Thomas. pp. 75-110 . Springfield, Ill., 1969 .
- 66) POLLEN, D. A. y AJMONE-MARSAN, C. Cortical inhibitory postsynaptic potential and strychninization. J. Neuro - physiol. 28: 342, 1965 .
- 67) PRINCE, D. A. Topical Convulsant Drugs and Metabolic Antagonists. En: Experimental Models of Epilepsy. A Manual for the Laboratory Worker, PURPURA, D. P., PENRY,

- J. K., TOWER, D., WOODBURY, D. M. y WALTER, R., editores. Raven Press, Publishers. pp. 52-54, New York, 1972.
- 68) PURPURA, D. P. Operation and Processes in Thalamic and Synaptically Related Neural Subsystems. En: Neurosciences Second Study Program, SCHMITT, F. O., editor. Rockefeller University Press. pp. 458-470, New York, 1970 .
- 69) PURPURA, D. P. y GONZALEZ-MONTEAGUDO, O. Acute effects of methoxypyridine on hippocampal end-blade neurons: an experimental study of "special pathocclisis" in the cerebral cortex. J. Neuropath. Exp. Neurol. 19: 421, 1960 .
- 70) RAHN, J. Biology. The Science of Life. Macmillan Publishing Co., Inc. pp. 324-326 . New York, 1974 .
- 71) SCHMIDT, R. P., THOMAS, L. B. y WARD, A. A., Jr. The hyperexcitable neurone. Microelectrode studies of chronic epileptic foci in monkey . J. Neurophysiol. 22: 285, 1959 .
- 72) SEEMAN, P. M. Membrane stabilization by drugs, tranquilizers, steroids and anesthetics. Int. Rev. Neurobiol. 9: 145, 1966 .

- 73) SERVIT, Z. y STERC, J. Audiogenic epileptic seizures evoked in rats by artificial epileptogenic foci. Nature 181: 1475, 1958 .
- 74) SHEPHERD, G. M. The Synaptic Organization of the Brain, an Introduction. Oxford University Press. pp. 38-57 , New York, 1974 .
- 75) STEEN, E. B. y MONTAGU, A. Anatomy and Physiology. Vol. 2 . Barnes and Noble, Inc. pp. 68-69 . New York, 1964 .
- 76) STEFANIS, C. y JASPER, H. Strychnine reversal of inhibitory potentials in pyramidal tract neurons. Int. J. Neuropharmacol. 4: 125, 1965 .
- 77) STERCOVA, A. Dynamics of Neurohistological Changes in an Epileptogenic Focus Produced by Alumina Cream in the Rat. En: Comparative and Cellular Patho-Physiology of Epilepsy, SERVIT, Z., editor. Excerpta Medica. Amsterdam, 1966 .
- 78) STERIADE, M., APOSTOL, V. y OAKSON, G. Control of unitary activities in the cerebellothalamic pathway during wakefulness and synchronized sleep. J. Neurophysiol. 34: 389, 1971 .

- 79) STERIADE, M. y DESCHENES, M. Cortical interneurons during sleep and waking in freely moving primates. Brain Res. 50: 192, 1973 .
- 80) STONE, W. E. Action of Convulsivants: Neurochemical Aspects. En: Basic Mechanisms of the Epilepsies, JASPER, H. H., WARD, A. A., Jr. y POPE, A. Little, Brown and Company. pp. 184-193 . Boston, 1969 .
- 81) STONE, W. E. The role of the acetylcholine in brain metabolism and function. Am. J. Phys. Med. 36: 222, 1957.
- 82) STONE, W. E. Systemic Chemical Convulsants and Metabolic Derangements. En: Experimental Models of Epilepsy. A Manual for the Laboratory Worker, PURPURA, D. P., PENRY, J. K., TOWER, D., WOODBURY, D. M. y WALTER, R., editores. Raven Press, Publishers. p. 115. New York, 1972 .
- 83) TAPIA, R., PEREZ DE LA MORA, M. y MASSIEU, G. H. Correlative changes of pyridoxal kinase, pyridoxal-5'-phosphate and glutamate decarboxylase in brain, during drug induced convulsions. Ann. N. Y. Acad. Sci. 166: 257, 1969 .
- 84) TOWER, D. B. Neurochemical Mechanisms. En: Basic Mecha-

nisms of the Epilepsies, JASPER, H. H., WARD, A. A., JR.
y POPE, A. Little, Brown and Company. pp. 611-638 .
Boston, 1969 .

- 85) VAN DEN BERG, C. J. Glutamate and Glutamine. En: Hand-
book of Neurochemistry, Vol. 3., LAJTHA, A., editor.
Plenum Press, pp. 355-379, New York, 1970 .
- 86) VELASCO, M., VELASCO, F., ESTRADA-VILLANUEVA, F. y OLVE-
RA, A. Alumina cream-induced focal motor epilepsy in
cats. Part 1. Lesions size and temporal course.
Epilepsia 14: 3, 1973 .
- 87) VELASCO, M., VELASCO, F., LOZOYA, X., FERIA-VELASCO, A.
y GONZALEZ-LICEA, A. Alumina cream-induced focal motor
epilepsy in cats. Part 2. Thickness and cellularity of
cerebral cortex adjacent to epileptogenic lesions.
Epilepsia 14: 15, 1973 .
- 88) WALSH, G. O. Penicillin iontophoresis in neocortex of
cat. Effects on the spontaneous and induced activity of
single neurons. Epilepsia 12: 1, 1971 .
- 89) WARD, A. A., JR. Epilepsia. Int. Rev. Neurobiol. 3: 137,
1961 .

- 90) WARD, A. A., Jr. The epileptogenic neuron.
Epilepsia 2: 70, 1961 .
- 91) WARD, A. A., Jr. Topical Convulstant Metals. En: Experimental Models of Epilepsy. A Manual for the Laboratory Worker, PURPURA, D. P., PENRY, J. K., TOWER, D., WOOD - BURY, D. M. y WALTER, R., editores. Raven Press, Publishers. pp. 14-26 . New York, 1972 .
- 92) WARD, A. A., Jr., McCULLOCK, W. S. y KOPELOFF, N. Temporal and spatial distribution of changes during spontaneous seizures in monkey brain. J. Neurophysiol. 11: 377, 1948 .
- 93) WECHSLER, I. S. Neurología Clínica. 9a. Ed. Editorial Interamericana. pp. 568-573 . México, 1965 .
- 94) WESTRUM, L. E., WHITE, L. E. y WARD, A. A., Jr. Morphology of experimental epileptic focus. J. Neurosurgery 21: 1033, 1964.
- 95) WOOD, J. D. Systemic Oxygen Derangements. En: Experimental Models of Epilepsy. A Manual for the Laboratory Worker, PURPURA, D. P., PENRY, J. K., TOWER, D., WOOD - BURY, D. M. y WALTER, R., editores. Raven Press, Publi-

shers. pp. 459-461. New York, 1972 .

- 96) WOOD, J. D. y ABRAHAMS, D. E. The comparative effects of various hydrazides on gama-aminobutyric acid and its metabolism. J. Neurochem. 18: 1017, 1971 .
- 97) WYMAN, J. Regulation in macromolecules as illustrated by hemoglobin. Q. Rev. Biophys. 1: 35, 1968 ,