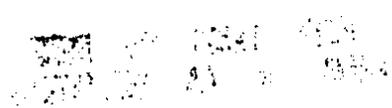


03068
3 2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS



EFFECTO DE LA NALOXONA EN LA ACTIVIDAD
ELECTROENCEFALOGRAFICA Y CONDUCTA
DE GATOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
FISIOLÓGICAS

P R E S E N T A :

LUISA LILIA ROCHA ARRIETA

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1988



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 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.

INDICE

RESUMEN.....	5
INTRODUCCION.....	7
<u>Opioides Endógenos</u>	12
<u>Naloxona</u>	16
<u>Kindling</u>	18
<u>Opioides Endógenos y Epileptogénesis</u>	24
GRUPOS DE EXPERIMENTACION.....	32
<u>Experimento I</u>	33
<u>Experimento II</u>	45
<u>Experimento III</u>	58
<u>Experimento IV</u>	68
DISCUSION.....	75
APENDICE.....	95
<u>Preparación Biológica</u>	95
<u>Estimulación Eléctrica para producir Kindling Amigda- lino</u>	96
<u>Registro de la Actividad Eléctrica Cerebral</u>	97
<u>Registro de otras Variables Fisiológicas</u>	98
<u>Estimulación Luminosa en la preparación de encéfalo aislado</u>	98
<u>Análisis de los Potenciales Evocados Visuales (PEV)</u>	99
<u>Estimulación Sensorial en los animales en libre movimiento</u>	99
<u>Análisis del Espectro de Potencia del EEG</u>	100
<u>Determinación de la Cantidad de Naloxona en Plasma</u>	100
<u>Histología</u>	102
BIBLIOGRAFIA.....	103

RESUMEN

El papel de los opioides endógenos en la epilepsia es controvertido, ya que se les atribuyen efectos proconvulsivos así como anticonvulsivos.

El propósito de este estudio fué analizar el efecto de la naloxona en gatos en un modelo experimental de epilepsia como es el kindling, en la actividad electrográfica y respuestas eléctricas a la estimulación sensorial así como cambios conductuales de estos animales producidos por dicha sustancia.

Se realizaron 4 experimentos en gatos, de los cuales en 3 se utilizó la preparación de encéfalo aislado. En el experimento I se analizaron los cambios del desarrollo electrográfico del kindling amigdalino inducidos por la administración repetida (i.v.) de naloxona (2, 4 u 8 mg/kg). En el experimento II se investigó el efecto de la administración (i.v.) repetida de dosis no convulsivantes de naloxona sola (2, 4 u 8 mg/kg) y con estimulación luminosa intermitente (ELI), en el EEG y su espectro de potencia. En el experimento III se analizaron los cambios en el EEG y potenciales evocados visuales (PEV) producidos por la administración (i.v.) de dosis únicas de naloxona sola (de 5 a 40 mg/kg) y asociación a fentanil (100 µg/kg). En el experimento IV se estudiaron los cambios conductuales provocados por la administración repetida de 8 mg/kg de naloxona (i.p.) en gatos íntegros y en libre movimiento.

Los resultados fueron los siguientes: La naloxona aceleró el desarrollo del kindling amigdalino, ya que la duración, propagación y frecuencia de la PD fueron mayores cuando se administró esta sustancia, asimismo se precipitó la aparición de crisis convulsivas. La administración repetida de dosis bajas de naloxona sola provocó cambios electrográficos progresivos que fueron desde actividad cortical de alto voltaje a 6 Hz, hasta la aparición de actividad convulsiva; la ELI precipitó la aparición de esta última. Dosis únicas de naloxona provocaron cambios electrográficos progresivos en el EEG y PEV, cuya duración fue mayor que el tiempo de vida media de esta sustancia (137 min.). Dosis de 30 mg/kg o más produjeron actividad convulsiva súbita, la que se previno con la aplicación de fentanil previa a la de la naloxona. La administración repetida de naloxona a animales

integros y en libre movimiento provocó cambios conductuales progresivos que fueron desde somnolencia hasta actividad convulsiva. En esta última los animales no mostraron depresión conductual postictal.

Con base en los resultados obtenidos se puede concluir que la naloxona, a las dosis utilizadas, tiene efecto epileptógeno, el cual puede deberse a antagonismo del efecto inhibitorio de los opioides endógenos, los que a su vez, impiden la aparición de actividad epiléptica. Así también, debido a que la naloxona, desde dosis de 5 mg/kg, produce cambios importantes en los PEV, es posible postular que los opioides endógenos juegan un papel importante en la modulación y procesamiento de la información sensorial. El efecto epileptógeno de la naloxona puede deberse también a un antagonismo en el efecto inhibitorio del GABA, o en la acción de otros neurotransmisores.

INTRODUCCION

La epilepsia es una alteración transitoria y paroxística de las funciones cerebrales que aparece de manera súbita, cesa espontáneamente y tiende a ser recurrente. Se asocia a cambios conductuales y/o movimientos anormales del cuerpo debido a la excesiva descarga de poblaciones neuronales como consecuencia del aumento de su excitabilidad. Se puede deber, a lesiones de la sustancia gris cerebral, así como a alteraciones de los mecanismos reguladores del funcionamiento nervioso (Somjen, 1984; Fernández-Guardiola, 1986).

Existen estudios con los que se analizan los cambios producidos o asociados a la actividad convulsiva. Desde el punto de vista bioquímico se conocen alteraciones del metabolismo neuronal, de neurotransmisores, neuromoduladores, aminoácidos, enzimas, iones, etc. (Somjen, 1984). También existen investigaciones enfocadas a descubrir los factores responsables de la producción y supresión de la actividad convulsiva. Entre estos últimos se han situado a los opioides endógenos. Sin embargo los datos reportados en la literatura resultan contradictorios al respecto.

Debido a la necesidad de conocer los mecanismos generadores de la epilepsia, ha surgido una gran variedad de

modelos experimentales con los que se reproducen cambios electrográficos y conductuales similares a los observados en la epilepsia. Entre estos se encuentran la estimulación eléctrica de alta intensidad de estructuras nerviosas, la aplicación local de sustancias químicas como la estricnina, la modificación iónica extracelular, el enfriamiento y la administración sistémica de sustancias convulsivantes, entre otros (para mayor información ver la revisión de Fernández-Guardiola, 1986). Cada uno de estos modelos producen focos de actividad convulsiva temporales. Existen otros modelos que generan focos crónicos, como en los que se utiliza la crema de alumina (Gastaut y col., 1959) y el cobalto (Dow, Fernández-Guardiola y Manni, 1962).

Un modelo ideal para la producción de epilepsia debe tener las siguientes características (Wada, 1976; Reid y Sybert, 1984):

a) Las anormalidades electrográficas inducidas por la manipulación experimental deben ser semejantes a las observadas en registros de humanos con epilepsia.

b) Las crisis convulsivas presentadas en el modelo animal deben ocurrir espontáneamente por meses o años después de la producción del foco experimental.

c) Las características electrofisiológicas de unidades aisladas observadas en la epilepsia experimental deben ser similares a las reportadas en neuronas de focos epilépticos en humanos.

d) Desde el punto de vista morfológico, debe existir control experimental preciso del área nerviosa utilizada así como del tamaño de las lesiones epileptógenas.

e) Control experimental adecuado de la cronología del desarrollo de las crisis.

f) Precipitación segura de las crisis mediante una manipulación experimental identificable y reproducible.

g) El modelo utilizado debe llenar los criterios anteriores con la utilización de preparaciones poco costosas.

El kindling o encendido * , que consiste en la estimulación eléctrica subumbral y repetida de estructuras nerviosas, es un modelo ideal para estudiar la epileptogénesis, ya que facilita la producción de un foco crónico de actividad epiléptica, asociado a cambios conductuales y

La palabra kindling proviene del término inglés kindle, que se refiere a las ramas o trozos de ocote que se utilizan para prender fuego. También se origina de la palabra alemana kind que significa niño, algo que al principio es pequeño, pero que necesariamente crecerá.

electrográficos que culminan con la aparición de crisis convulsivas generalizadas (Goddard, McIntyre y Leech, 1969). Este modelo también se utiliza para investigar el efecto de algunas sustancias en la actividad epiléptica, como acetilcolina, norepinefrina, dopamina, benzodiazepinas, GABA, y opioides endógenos entre otras.

Hay evidencias de la liberación y/o aumento del efecto de sustancias como consecuencia de la actividad convulsiva, impidiendo la aparición de una nueva crisis. Entre estos se encuentran los opioides endógenos, que aumentan durante el desarrollo del kindling amigdalino (Vindrola, y col., 1981a), así como por la aplicación de choques electroconvulsivos (Hong y col., 1979). También se piensa que estos péptidos probablemente tienen un efecto protector ya que pueden ser los responsables del silencio postictal (Tortella y Cowan, 1982a).

Con base en las evidencias que apoyan un papel inhibitorio de los opioides endógenos en el funcionamiento del sistema nervioso, en la presente tesis se postula que su antagonismo por medio de la naloxona, puede producir actividad epiléptica así como cambios importantes de la actividad sensorial.

Para tal propósito se investigaron los efectos producidos por la administración de naloxona sola; asociada a estimulación sensorial; durante el desarrollo del kindling amigdalino; los cambios producidos en potenciales evocados visuales (PEV); y los cambios electrográficos producidos por esta sustancia cuando se asocia a un agonista de los opioides endógenos, como el fentanil, en gatos con la preparación de encéfalo aislado. También se analizaron los efectos de la naloxona sola y con estimulación sensorial en la conducta de gatos íntegros y en libre movimiento.

Opioides Endógenos

En 1975, Hughes aportó la primera evidencia de la existencia de una sustancia endógena con efectos semejantes a los de la morfina. Él demostró que en el extracto de cerebro de algunas especies animales hay un componente capaz de inhibir la actividad contráctil del vaso deferente del ratón, efecto que se antagoniza con la administración de naloxona y naltrexona. A esa sustancia la denominó NRA (naloxone reversible activity).

Posteriormente se aislaron los primeros opioides endógenos, dos pentapéptidos llamados met-enkefalina y leu-enkefalina, cuyo precursor es la proenkefalina y que difieren en su aminoácido terminal. Después se descubrieron las endorfinas: alfa-endorfina, beta-endorfina y gama-endorfina, de 16, 31 y 17 aminoácidos respectivamente. Actualmente se conoce un gran número de opioides endógenos (para mayor información ver Kitchen, 1985).

Se describen efectos inhibitorios de los opioides endógenos sobre la actividad neuronal. Zieglansberger y col. (1976b) encontraron que la administración electroforética de enkefalinas en la corteza cerebral inhibe el disparo neuronal espontáneo y el producido por la aplicación de

l-glutamato; tal efecto es revertido por la naloxona. Prosdon-
cini, Finesso y Gorio en 1986, postularon que los opioides
endógenos pueden jugar un papel modulador en la transmisión
nerviosa ganglionar, ya que la aplicación de met- y leu-
encefalina en el ganglio estrellado del gato deprime la
respuesta postsináptica. En 1980 Kuhar encontró que las
encefalinas inhiben el disparo neuronal de núcleos que tie-
nen altas concentraciones de receptores a opioides como es el
locus ceruleus y el núcleo parabraquial. Dingledine (1981)
describió que las encefalinas tienen efectos excitatorios
debido a que disminuyen el potencial postsináptico inhibito-
rio (PPSI) de las dendritas apicales y basales de las célu-
las piramidales del hipocampo, y por lo tanto aumentan la
amplitud y duración de su potencial postsináptico excitato-
rio (PPSE).

Se describe que los opioides endógenos tienen efectos
analgésicos. La administración intracerebroventricular
(i.c.v.) en ratones de met- y leu-encefalina causa analge-
sia, con efecto máximo a los 2 min después de su aplica-
ción, y con una duración de 5 min, a diferencia de la
morfina, con la que se alcanza dicho efecto más tardíamen-
te, pero con mayor duración (15 min) (Buscher y col., 1976).
Por otra parte, la aplicación electroforética en médula
espinal de sustancias agonistas de los opioides causa efecto

analgésico de tipo narcótico (Zieglgansberger y Bayer, 1976a). Asimismo, existen evidencias de que la aplicación de met-enkefalina deprime la actividad de neuronas corticales relacionadas con respuestas a estímulos nociceptivos (Mill, Pepper y Mitchell, 1976).

Por medio de estudios autorradiográficos se conoce la localización y concentración de receptores de opioides endógenos en el sistema nervioso (Atewh y Kuhar, 1977), lo que permite suponer una relación funcional de estas sustancias con la del sitio de su localización.

Los opioides endógenos se relacionan con funciones sensoriales. Algunos núcleos nerviosos que forman parte de vías sensoriales tienen receptores de esas sustancias (Atewh y Kuhar, 1977). También se describe que la aplicación de agonistas de los opioides endógenos produce decremento de la amplitud de los componentes de las respuestas evocadas generadas por estimulación sensorial (potenciales evocados somatosensoriales) (Buchbaum y col., 1981).

La habituación es un fenómeno que está relacionado con la modulación de la actividad sensorial el cual se presenta cuando un estímulo se aplica repetidamente a intervalos fijos, lo que produce disminución progresiva de la respuesta

a dicho estímulo (Harris, 1943). Pellicer y col. (1983) refirieron que la administración (i.v.) de 0.8 mg/kg de naloxona impide la habituación de las respuestas reflejas en la médula espinal del gato en la preparación espinal aguda, y postularon que este fenómeno se debe a la acción inhibitoria de los opioides endógenos. Dowman y Rosenfeld en 1985 demostraron que la administración de 1 mg/kg de naloxona (i.p.) bloquea el decremento de la amplitud de los componentes tempranos (9 ms) y el aumento de los componentes medios (14 a 50 ms) de los potenciales evocados somatosensoriales producidos durante la habituación a la estimulación no dolorosa.

Por su parte, Lewis y col. (1981) postularon que los opioides endógenos juegan un papel importante en el procesamiento y filtración de la información sensorial debido a que existe mayor concentración de receptores de estas sustancias en las áreas corticales de asociación, que en otras áreas.

La relación de los opioides endógenos y epileptogénesis, será tratada posteriormente. Se concluye que los opioides endógenos tienen un papel importante en la fisiología del sistema nervioso, ya que se asocian a funciones sensoriales y a mecanismos moduladores de la actividad neuronal.

Naloxona

El análisis de las acciones y efectos de las sustancias antagonistas de los opioides endógenos lleva a conocer de manera indirecta las funciones de estos últimos.

La naloxona (Nalil, 7-8 dihidro, 14-hidroxinormofinona), sintetizada por primera vez por Lewenstein y Fishman en 1966, es el prototipo de los antagonistas competitivos de los opioides. Su efecto se debe, en parte, al bloqueo de receptores de estas sustancias, principalmente los de tipo mu y con menor afinidad los de tipo kappa y delta (Young y Khazan, 1984).

En cuanto a la farmacocinética de la naloxona, se sabe que en el hombre sufre reacciones de N-dealquilación y reducción del grupo 6-oxo, y da origen a derivados glucurónicos. También se conoce que el nivel plasmático de esta sustancia en ratas es de 258 ng/ml a los 5 min después de que se administró una dosis de 1 mg/kg (i.v.) (Weinstein, Pteffer y Schor, 1973). Se postula que su vida media es de 137 min en el gato (Curtis y Lefer, 1982).

Se conocen algunos efectos de la naloxona. La infusión continua de esta sustancia provoca manifestaciones caracte-

rísticas del síndrome de abstinencia (sacudidas de perro mojado, contracciones abdominales, etc) (Malin y col., 1985). Asimismo, su administración en ciertas condiciones puede producir o incrementar la actividad convulsiva de algunos animales (Schreiber, 1979; Snyder y col., 1981).

La naloxona puede modificar la acción de algunas sustancias. Gruol, Barker y Smith en 1980, encontraron que bloquea el efecto hiperpolarizante del GABA, deprime la respuesta a la glicina y potencia la producida por el glutamato de neuronas en cultivo. También encontraron que con 10 mg/kg (i.p.) revierte el incremento de dopamina en el estriado y el decremento del metabolismo cerebral producido por el ácido gamma-hidroxi-butírico, que es un metabolito del GABA. Por su parte, Quok y Lucas en 1985, refirieron que la naloxona potencia los efectos de la L-dopa, pero no los de la atropina, en un modelo de parkinsonismo producido por oxotremorina. Sasaki y col. (1984) describieron que dosis bajas de naloxona (3×10^{-7} hasta 3×10^{-5} mol) aumenta el efecto vasoconstrictor de la adrenalina y noradrenalina y mientras que dosis altas (3×10^{-4} mol) producen vasodilatación.

Por lo expuesto previamente se aprecia que la naloxona tiene efectos relacionados con la acción de los opioides endógenos así como de otras sustancias.

Kindling

Existen modelos experimentales con los que se modifica la actividad neuronal por estimulación eléctrica, provocando respuestas como la potenciación posttetánica (Lloyd, 1949) y la potenciación duradera (Bliss y Gardner-Medwin, 1973; Douglas y Goddard, 1975). Asimismo es posible inducir cambios en el funcionamiento del sistema nervioso hasta la aparición de crisis convulsivas generalizadas (CCG) como lo demostraron Alonso de Florida y Delgado (1958), quienes provocaron cambios conductuales y electroencefalográficos hasta actividad convulsiva en gatos, por estimulación eléctrica umbral de la amígdala cerebral, con pulsos bipolares de 0.2 ms de duración, a 100 Hz, con intensidad de 0.2 a 4 mA por 0.5 s, cada 5 s, durante una hora, cada 24 hrs, de 1 a 15 días.

El fenómeno kindling es un modelo experimental de epilepsia con el que, por medio de la aplicación repetida de estímulos eléctricos subumbrales, se inducen cambios conductuales y electrográficos permanentes que culminan con CCG (Goddard y col., 1969).

La estimulación eléctrica que se emplea para provocar kindling debe darse en trenes de 1 a 2 s de duración, con

pulsos cuadrados de 1 ms, a frecuencias de 25, 60 o 150 Hz, en intervalos constantes desde 15 min hasta 7 días (Goddard y col., 1969). La aplicación de estímulos eléctricos con esas características por un tiempo prolongado produce actividad convulsiva súbita (Pinel, 1981).

En gatos, las manifestaciones conductuales producidas por el kindling se agrupan en 6 fases: (Wada y Sato, 1974) que son:

Fase 1-. Contracción de la musculatura facial ipsilateral al sitio de estimulación (twitching).

Fase 2-. Contracción bilateral de la musculatura facial.

Fase 3-. Movimiento repetitivo de cabeza (nodding).

Fase 4-. Rotación contralateral de cabeza con extensión del miembro anterior contralateral.

Fase 5-. Paroxismos generalizados.

Fase 6-. Crisis convulsivas generalizadas.

Durante el kindling, la postdescarga (PD) generada por la estimulación eléctrica subumbral se caracteriza por aumentar progresivamente en duración, amplitud, propagación a otras estructuras así como la frecuencia de descarga interictal y la complejidad de sus espigas (Racine, 1972a).

El kindling produce cambios neuronales permanentes, ya

que, cuando este fenómeno evoluciona hasta la fase 6 y se deja de estimular durante un periodo prolongado (1 año) la producción de actividad epiléptica por estimulación eléctrica subumbral no desaparece (Goddard y col., 1969)

El kindling presenta el fenómeno de transferencia que consiste en facilitar la producción de actividad epiléptica en una estructura por estimulación eléctrica de otra. Por ejemplo, después de desarrollar kindling por la aplicación de 18 estimulaciones eléctricas en la amígdala cerebral derecha, se necesitan de 12 estímulos en el núcleo contralateral para producir actividad convulsiva (Racine, 1972a). Por el contrario, el fenómeno de interferencia retrasa el desarrollo del kindling y se produce cuando se aplican estímulos eléctricos a diferentes intervalos de tiempo, cuando estos últimos son menores de 10 min o por estimulación alternada de estructuras cerebrales homólogas (Gaito, 1980).

Existen otros factores que retardan la aparición de actividad convulsiva en el kindling como es la separación de los hemisferios cerebrales. Por el contrario, la estimulación simultánea de ambas amígdalas cerebrales o hipocampos produce crisis convulsivas con un número menor de ensayos, que cuando se estimula uno solo de ellos (Racine, Okujava y

Chipashvili, 1972b). La aplicación de un estímulo tetanizante previa a la estimulación eléctrica subumbral también acelera la evolución del kindling (Racine, Newberry y Burham, 1975a).

Este fenómeno se puede desarrollar con mayor facilidad por la estimulación eléctrica de ciertas estructuras nerviosas, como la amígdala cerebral del lóbulo temporal, globo pálido, corteza piriforme, corteza olfatoria, neocorteza anterior, corteza entorrinal, bulbo olfatorio, área septal y preóptica, núcleo caudado e hipocampo (Goddard y col., 1969). La estimulación eléctrica de estructuras relacionadas con la actividad sensorial, como tálamo y corteza sensorial, también desarrolla kindling (Cain, 1979 y 1982).

Por su parte, Fernández-Guardiola y col. han estudiado el fenómeno kindling en diferentes estructuras del sistema nervioso central. En 1981 encontraron que el kindling del quiasma óptico provoca actividad paroxística cortical y aumento de los PEV registrados a lo largo de la vía visual (Fernández-Guardiola, Condés-Lara y Calvo, 1981a). En el mismo año, describieron que la estimulación eléctrica del rafe dorsal, similar a la utilizada para producir kindling, no provoca signos de epileptización como los observados en otras estructuras y no hay cambios importantes en las fases

el sueño (Fernández-Guardiola, Jurado y Calvo, 1981b). En 1982, Fernández-Guardiola y col. encontraron que la aplicación de estímulos eléctricos similares a los utilizados para producir kindling, en nervios cutáneos o musculares aferentes de la médula espinal, causa incremento progresivo de las respuestas mono y polisinápticas. El mismo grupo ha postulado que los opioides endógenos son los responsables del fenómeno de habituación en la médula espinal (Pellicer y col., 1983; Fernández-Guardiola, Calvo y Pellicer, 1986).

No se conoce la existencia de cambios morfológicos generados por la producción de kindling (Goddard y col., 1969; Racine, Tuff y Zaide, 1975b), sin embargo no se puede descartar su existencia.

Existen estructuras que tienen altas concentraciones de receptores de opioides endógenos, como el núcleo amigdalino (Kuhar, Pert y Snyder, 1973). Se describe que dichas estructuras necesitan de menor número de estimulaciones eléctricas para desarrollar kindling (Goddard y col., 1969), por lo que es posible pensar que estas sustancias pueden jugar un papel importante en dicho proceso.

El kindling también se puede desarrollar con la aplicación de ciertas sustancias químicas. Ito y col. (1977)

encontraron que la administración repetida de pentilente-trazol en ratas produce cambios conductuales similares a los producidos por el kindling eléctrico. Por su parte, Cain y Corcoran (1984 y 1985) refirieron que la aplicación repetida de met-enkefalina o beta-endorfina en algunos núcleos de la amígdala cerebral así como en el hipocampo, produce kindling químico, ya que aparecen cambios conductuales y electrográficos (contracción de la musculatura facial, sacudidas de perro mojado y espigas epileptiformes) que culminan con la aparición de actividad convulsiva generalizada. La naloxona (1 a 10 mg/kg i.v.) bloquea dicho efecto.

Existen otros modelos experimentales, en los que se pueden estudiar los efectos de la estimulación eléctrica repetida similar a la utilizada en el kindling eléctrico. Rodríguez y col. (1986) encontraron que la aplicación repetida de estímulos eléctricos de bajo voltaje en el íleo aislado de cobayo, produce de manera gradual y progresiva, aumento de la actividad basal del tejido y culmina con contracciones espontáneas de la preparación, las cuales persisten varias horas después.

Con base en las evidencias presentadas, se concluye que el kindling puede ser un modelo experimental adecuado para estudiar el efecto de los opioides endógenos en la epilepsia.

Opioides Endógenos y Epileptogénesis

El papel que juegan los opioides endógenos en la epileptogénesis es controvertido ya que existen evidencias experimentales que apoyan la existencia de efectos anticonvulsivos así como proconvulsivos. Estos efectos se pueden investigar indirectamente utilizando naloxona, sin embargo, los datos reportados al respecto también son contradictorios.

Su estudio se ha realizado en varios modelos experimentales. Una de las especies más utilizadas al respecto es la rata, en la que se ha descrito que la aplicación i.c.v. de opioides endógenos y sustancias agonistas (met-enkefalina, leu-enkefalina, morfina, beta-endorfina, N-alilmetazocina, DALA) inducen actividad convulsiva (Urca, Frenk y Liebeskind, 1977; Frenk, McCarty y Liebeskind, 1978a; Frenk, Urca y Liebeskind, 1978b; Henricksen y col., 1978; Tortella, Moreton y Khazan, 1978; Snead y Bearden, 1982; Snead y Stephens, 1984). Frenk y Stein (1984) encontraron que la aplicación intratecal de morfina o DALA, así como de morfina (i.p.) en la misma especie animal, también induce actividad convulsiva. Por su parte, Calder, Snyder y Dustman (1982) describieron que la naloxona (i.c.v. o i.p.) en ratas induce actividad convulsiva en sitios específicos del SNC.

Existen otros estudios en los que se analiza el efecto de agonistas y antagonistas de los opioides endógenos en modelos experimentales de epilepsia en ratas. Tortella y col. (1981) describieron que el pretratamiento con naloxona (s.c.) reduce la depresión postictal de la actividad convulsiva por electrochoques. El mismo grupo (1982b), encontró que la severidad del síndrome de abstinencia provocado por el RX 336-M (i.p.) disminuye por la aplicación de electrochoques, efecto que se revierte con naloxona (s.c.). Con base en sus estudios, este grupo postula que la actividad convulsiva por electrochoques activa un sistema que libera opioides endógenos, los que a su vez son los responsables de la depresión postictal y pueden revertir el síndrome de abstinencia producido por el RX 336-M. Cowan, Tortella y Adler (1981) así como Tortella, Cowan y Adler (1984) refirieron que la aplicación de algunos agonistas de los opioides endógenos (FK-33,824 y metkefamida (s.c.) así como pentazocina y meperidina (i.c.v.) aumenta el umbral para la actividad convulsiva provocada por fluorotil inhalado, efecto que se antagoniza con el pretratamiento con naloxona (s.c.). Por su parte Tursky y col. (1985) describieron que la aplicación (i.p.) de morfina en ratas aumenta el efecto epileptógeno de la pilocarpina (i.p.), mientras que la naloxona lo disminuye.

El papel de los opioides endógenos en la actividad

convulsiva también se ha estudiado en otros modelos naturales y experimentales de epilepsia. Snyder y col. (1981) refirieron que dosis de 0.5 a 8 mg/kg (i.m.) de naloxona en el Macaca arctoides provoca aumento de las frecuencias de 19 a 24 Hz en el EEG, mientras que dosis mayores de 32 mg/kg (i.m.) producen crisis convulsivas. Schreiber (1979) encontró que la aplicación de 2 a 4 mg/kg (i.p.) de naloxona aumenta la actividad convulsiva de ratones con crisis audiogénicas. Meldrum y col. (1979 y 1981) describieron que la administración (i.c.v.) de morfina, met-enkefalina, beta-endorfina y FK-33,824 en el Papio-papio con epilepsia fotoseñalable, no aumenta la actividad convulsiva, por lo contrario, aumenta la latencia de las mioclonias, pudiendo ser suprimidas, y que la naloxona (i.m.) no genera cambios importantes al respecto. En gerbos con epilepsia natural, Bajorek y Lomax (1982) encontraron que la beta-endorfina (i.c.v.) puede disminuir la actividad convulsiva, efecto que se previene con la aplicación previa de naloxona (i.p.). Con la misma especie, Lee, Bajorek y Lomax (1984) describieron que la morfina, ketociclazocina y N-alilnormetazocina (s.c.) disminuyen la incidencia y severidad de las CCG. La naloxona (s.c.) antagoniza el efecto de las dos primeras. Por su parte, Puglisi-Allegra y col. (1984 y 1985) refirieron que la administración (i.c.v.) aguda de morfina, beta-endorfina y DADL, así como la de morfina (i.p.), induce un efecto

protector a la actividad convulsiva provocada por electrochoques en ratones. Dicho efecto es antagonizado con naloxona. La aplicación (i.p.) de esta última o de naltrexona aumentan la incidencia de la actividad convulsiva. Massoti y col. (1984) así como Spillantini y Massoti (1986) describieron que la morfina o ciclazocina (i.v.) o la morfina (i.c.v.) disminuyen la incidencia de crisis convulsivas generadas por penicilina intracortical o estriocnina epicortical en conejos, mientras que la naloxona la aumenta y que con 20 mg/kg (i.v.) de esta última se antagoniza el efecto protector de dichas sustancias.

Durante el desarrollo del kindling las concentraciones de opioides endógenos se modifican. Vindrola y col. (1981a) encontraron que los niveles de encefalinas en el cerebro de la rata aumentan hasta un 40% cuando se presentan crisis convulsivas generalizadas tónico-clónicas durante el kindling eléctrico amigdalino. Además describieron que la leu-encefalina aumenta progresivamente, mientras que la met-encefalina solo se incrementa después de 5 o más CCG (Vindrola y col., 1981b). En el kindling inducido por pentiletetrazol ambas encefalinas se elevan en el cuerpo estriado, septum y principalmente amígdala cerebral. Sus concentraciones son mayores a las 24 hrs que 1 hr después de una CCG (Vindrola y col., 1983). Naranjo, Iadarola y Costa (1986)

describieron que, durante el desarrollo del kindling amigdalino eléctrico de la rata, hay incremento del RNAm para la proencefalina así como de la met5-encefalín-arg6-gli7-leu8 (MERGL) en el hipocampo, amígdala y estructuras relacionadas con sus proyecciones (corteza entorrinal y núcleo accumbens). Por su parte, Iadarola y col. (1986) encontraron aumento de la MERGL y colecistoquinina así como disminución de la dinorfina en el hipocampo y sustancia negra durante el mismo proceso y en la misma especie animal. La aplicación de sustancias agonistas de los opioides también modifican el desarrollo del kindling. Schwark, Frey y Czuczwar (1986) encontraron en ratas con kindling amigdalino, que la aplicación de meperidina, pentazocina, morfina y principalmente fentanil disminuye la severidad y duración de las crisis convulsivas asociado a aumento de la latencia de las mismas. Bonhaus, Rigsbee y McNamara (1987) describieron que, la aplicación intranigral de dinorfina 1-13 10 min antes de cada ensayo de estimulación eléctrica, induce decremento de la duración de la postdescarga y de la actividad convulsiva de manera dosis dependiente. También se han estudiado los efectos de los antagonistas de los opioides endógenos durante el desarrollo del kindling. Hardy y col. (1980) encontraron que la aplicación en ratas de 1 mg/kg (i.p.) de naloxona antes de cada estimulación eléctrica, reduce el número de ensayos necesarios para producir actividad convulsiva. Cottrell,

Nyakas y Bohus (1984) describieron que la aplicación (s.c. o i.c.v.) de naltrexona disminuye el silencio postictal conductual inducido por las CCG en el kindling eléctrico amigdalino y de hipocampo de ratas. Por otra parte, se ha demostrado que la aplicación de choques electroconvulsivos, con los que se produce liberación de opioides endógenos (Hong y col., 1979), impide el desarrollo y la aparición de actividad convulsiva en el kindling (Post y col., 1984; Shavit, Caldecott-Hazard y Liebeskind, 1984).

Por lo expuesto anteriormente se puede apreciar que los opioides endógenos juegan un papel importante en el funcionamiento del sistema nervioso, y que los cambios de sus concentraciones durante el desarrollo del kindling, pueden estar involucrados en los mecanismos productores de epilepsia. Sin embargo, las evidencias existentes al respecto no son concluyentes, debido a las contradicciones que existen entre ellas. Por este motivo, para la presente tesis se investigó el efecto de un antagonista de estas sustancias como es la naloxona, en diferentes situaciones experimentales, y así analizar, de manera indirecta, el papel de estos péptidos en la actividad epiléptica y en la modulación de la actividad sensorial.

Se decidió utilizar el kindling amigdalino, ya que es un

modelo ideal de epileptogénesis debido al control experimental que se puede ejercer, a que los cambios electrográficos y conductuales son permanentes y a la posible relación funcional que existe entre los opioides endógenos y este modelo. Se escogió la vía visual para analizar los efectos de los opioides endógenos en la actividad sensorial, debido a que es una vía específica, anatómicamente bien conocida y cuyos cambios de excitabilidad se puede asociar a la producción de actividad convulsiva.

Con este propósito se realizaron varios experimentos en los que, con la utilización de gatos en preparación "encéfalo aislado", se investigaron los cambios de la actividad eléctrica cerebral producidos por diferentes dosis de naloxona sola y asociada a kindling amigdalino o estimulación sensorial. También se estudiaron los cambios conductuales de gatos íntegros y en libre movimiento producidos por la naloxona y estimulación sensorial.

Se utilizó la preparación de "encéfalo aislado" (Bremer, 1935), debido a que en ésta, el animal se encuentra despierto, y es posible el registro de la actividad eléctrica del cerebro asociado a deaferentación periférica. Además se facilita el registro de variables biológicas difíciles de obtener en preparaciones crónicas, como electrocar-

diagrama, tensión arterial, temperatura; es posible tener una vía permeable de administración i.v. de soluciones y fármacos. Además, esta preparación se caracteriza por presentar actividad electroencefalográfica, motricidad pupilar, husos de sueño y reacción de despertar similar a la observada en animales íntegros (ver apéndice).

GRUPOS DE EXPERIMENTACION

Se establecieron 4 grupos experimentales de gatos: los 3 primeros se hicieron con la preparación aguda de encéfalo aislado y el último en animales íntegros y en libre movimiento.

En el primer grupo se analizó el desarrollo electroencefalográfico del kindling amigdalino en situación control y durante el efecto de la administración repetida de dosis no convulsivantes de naloxona (i.v.). En el segundo se estudiaron los cambios electroencefalográficos de la corteza motora (CM), corteza visual (CV), amígdala derecha (AmgD) y amígdala izquierda (AmgI), producidos por la administración (i.v.) repetida de dosis no convulsivantes de naloxona sola y con estimulación luminosa intermitente (ELI). En el tercer grupo se analizaron los cambios electrográficos y los potenciales evocados visuales (PEV) de las estructuras antes mencionadas, provocados por una administración única (i.v.) de naloxona sola y asociada a fentanil. Para este experimento se probaron diferentes dosis de naloxona, hasta encontrar las dosis convulsivantes. En el cuarto grupo se investigaron los cambios conductuales de gatos íntegros y en libre movimiento, producidos por la administración (i.p.) repetida de dosis no convulsivantes de naloxona sola y con estimulación sensorial.

Experimento I

Muchos estudios se han enfocado a caracterizar los neurotransmisores involucrados en el kindling. Existen evidencias de que los niveles de opioides endógenos de algunas estructuras nerviosas, se modifican durante este fenómeno (Vindrola y col., 1981a) por lo que se puede inferir una relación funcional entre ambos. También se sabe que la naloxona modifica el desarrollo del kindling (Hardy y col., 1980; Corcoran y Wada, 1979). Este experimento se hizo con el propósito de analizar el desarrollo electroencefalográfico del kindling amigdalino solo y asociado a la administración repetida de dosis no convulsivantes de naloxona, en la preparación de encéfalo aislado.

Se decidió utilizar la amígdala del lóbulo temporal ya que es un estructura con altas concentraciones de opioides endógenos y cuya estimulación eléctrica induce fácilmente el desarrollo del kindling.

Se utilizaron 2 grupos de animales. En el primero (n=6) se provocó kindling amigdalino con la aplicación de estímulos eléctricos umbrales en el núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal izquierdo, cada 15 min y por 30 ensayos (ver apéndice). En el segundo grupo se desarrolló

kindling amigdalino igual que en el grupo anterior, con administración de naloxona (i.v.) en 1 ml de solución salina 5 min antes de cada estímulo eléctrico. Las dosis de naloxona fueron 2 y 4 mg/kg por 18 ensayos respectivamente y 8 mg/kg por 8 ensayos. Se utilizaron 4 animales para cada dosis.

En ambos grupos se analizó el EEG de la CM, CV, AmgD y AmgI así como la propagación, duración y la frecuencia interictal de la PD producida por la estimulación eléctrica umbral.

Resultados

En el primer grupo se desarrolló kindling amigdalino por la aplicación repetida de estímulos eléctricos umbrales (aproximadamente 550 μ A) en el núcleo central del complejo amigdalino izquierdo. Se observó incremento progresivo de la duración de la PD amigdalina y principalmente aumento de la frecuencia y complejidad de la morfología de sus espigas. La PD se propagó inicialmente a la amígdala contralateral y después a la CM y CV. No se provocaron CCG con 30 ensayos de estimulación eléctrica, ya que, para el intervalo de estimulación de 15 min se necesitan de aproximadamente 70 ensayos para producir dicha actividad (Goddard y col., 1969).

En la figura 1 se presentan los registros durante los ensayos de estimulación eléctrica de la AmgI. Se aprecia el incremento progresivo de la duración y propagación de la PD de la estructura estimulada a las demás estructuras, fenómenos característicos del kindling.

KINDLING AMIGDALINO

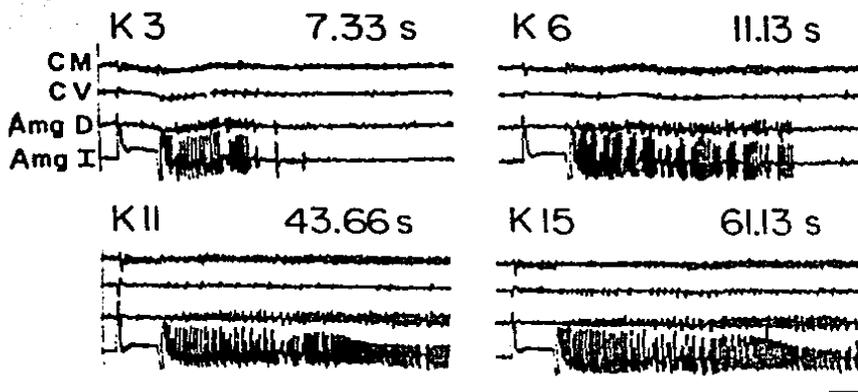


Fig.1. Cambios electrográficos de la PD durante el kindling amigdalino, producidos por la estimulación eléctrica de la amígdala izquierda. Se aprecia aumento progresivo de la propagación y duración de la PD. La duración en segundos se indica en la parte superior de cada registro (s). K, número de ensayo de estimulación eléctrica; CM, corteza motora; CV, corteza visual; AmgD, amígdala derecha; AmgI, amígdala izquierda (estructura estimulada). Calibración: 1 s, 100 μ V.

En el segundo grupo, con la administración repetida de 2, 4 u 8 mg/kg de naloxona durante el desarrollo del kindling amigdalino, la duración y frecuencia de la PD alcanzaron valores mayores a los obtenidos en el grupo con kindling solo, y su propagación a las demás estructuras fue más rápida. Se provocó actividad convulsiva con la estimulación eléctrica. Posteriormente, dicha actividad apareció de manera súbita.

Los promedios de los valores de la duración y frecuencia de las PD amigdalina obtenidos en cada ensayo en el grupo con kindling solo, se compararon con los del grupo con kindling y administración repetida de naloxona y se encontró lo siguiente: con 2 mg/kg la duración no fue significativamente diferente a la del primer grupo, mientras que con 4 y 8 mg/kg resultó ser significativamente mayor ($p < 0.05$) a partir del ensayo 13 y 3 respectivamente. La frecuencia de la PD amigdalina fue significativamente mayor ($p < 0.05$) desde el ensayo 10 con 2 y 4 mg/kg, y desde el ensayo 1 con 8 mg/kg.

La administración repetida de naloxona durante el desarrollo del kindling eléctrico en la preparación encéfalo aislado, también indujo actividad convulsiva al aplicar estimulación eléctrica. Para producir dicha actividad con 2

mg/kg se necesitaron 14 ensayos (28 mg/kg de naloxona total durante 210 min), con 4 mg/kg 7.6 ensayos (30.4 mg/kg de naloxona total durante 114 min) y con 8 mg/kg 5.7 ensayos (45.8 mg/kg de naloxona total durante 85 min) (ver tabla 1).

Tabla I. Número de administraciones de naloxona que se aplicaron hasta la aparición de CCG, durante el kindling amigdalino.

Dosis mg/kg	No. de administraciones
2	14.0 \pm 0.76
4	7.6 \pm 1.08
8	5.7 \pm 1.16

El valor obtenido con 2 mg/kg fue significativamente mayor ($p < 0.05$) con relación a los de 4 y 8 mg/kg.

En la figura 2 se muestran algunos registros de ensayos de estimulación eléctrica, durante el kindling amigdalino con administración repetida de 4 mg/kg de naloxona. Se aprecia que la PD aumenta en duración y se propaga a las demás estructuras hasta la aparición de CCG en el ensayo 5 y 9 (compárese con la fig. 1).

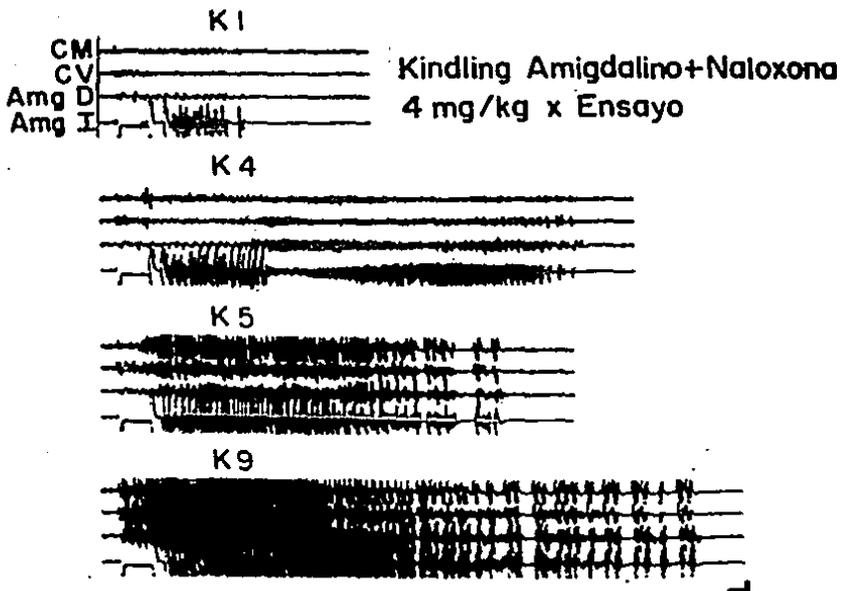


Fig. 2. Cambios de la PD amigdalina producidos por la administración repetida de naloxona (4 mg/kg i.v.). Nótese el aumento de la duración de la PD amigdalina y su propagación a las demás estructuras (K4) hasta la aparición de actividad convulsiva en K5 la que es de mayor intensidad en K9. Se aprecia que la evolución del kindling es más rápida cuando se asocia a la naloxona que cuando se induce sola (compárese con la fig. 1). Abreviaciones y calibración igual que que la fig. 1.

En las figuras 3 y 4 se muestran análisis de regresión lineal de los promedios de la duración y frecuencia de la PD durante el kindling solo y asociado a dosis repetidas de 2 y

4 mg/kg. Con una flecha se indica el ensayo a partir del cual el segundo grupo es significativamente mayor al de kindling solo.

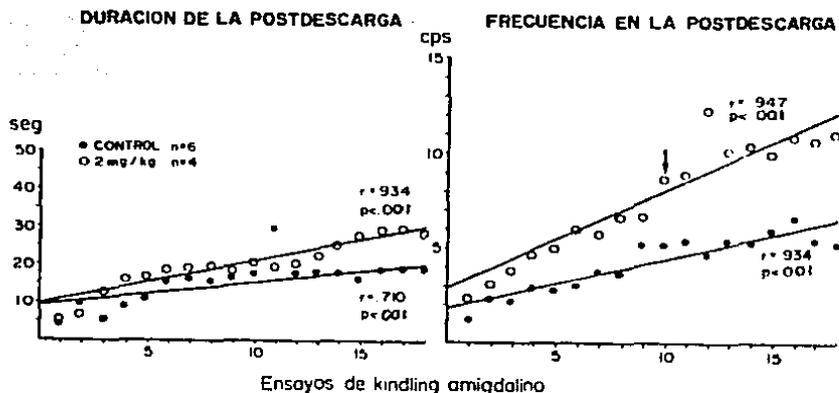


Fig. 3. Evolución de la duración y frecuencia de la PD durante el desarrollo del kindling amigdalino solo (●) y asociado a la administración repetida de 2 mg/kg de naloxona (○). Los valores de la duración de ambos grupos no fueron significativamente diferentes, mientras que los de la frecuencia del grupo con naloxona fueron mayores ($p < 0.05$) a partir del ensayo 10, el que se indica con una flecha.

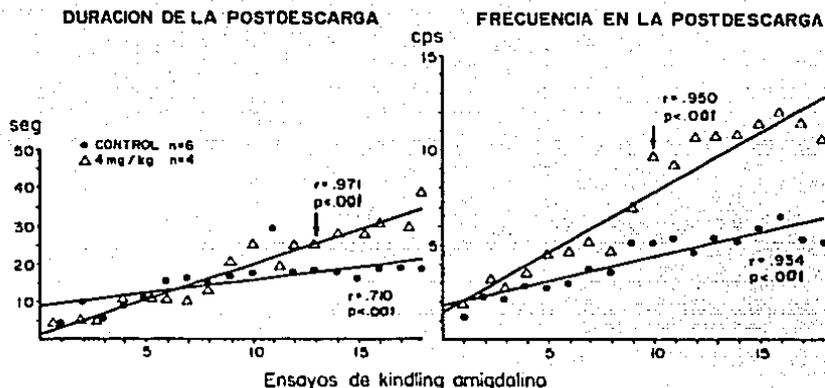


Fig. 4. En esta figura, se muestra un análisis similar al presentado en la fig. 3. Se trata de la evolución de la duración y frecuencia de la PD durante el desarrollo del kindling amigdalino solo (●) y asociado a la administración repetida (i.v.) de 4 mg/kg de naloxona (△). Los valores obtenidos en el grupo con naloxona fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) a los del grupo de kindling solo, a partir del ensayo 13 para la duración y 10 para la frecuencia, ambos marcados con una flecha.

En el grupo en el que se probó directamente la dosis de 8 mg/kg de naloxona, se continuó la estimulación eléctrica hasta 2 hrs después de que se terminó de aplicar esta sustancia. Aproximadamente 90 min después de la última administración las CCG desaparecieron, disminuyó la duración y propagación de la PD hasta localizarse únicamente en la amígdala estimulada, y posteriormente la evolución del

fenómeno fué similar a la presentada en el grupo con kindling amigdalino solo.

La actividad eléctrica registrada en los intervalos interestímulo, durante el desarrollo del kindling amigdalino, también mostró cambios progresivos. Inicialmente apareció actividad cortical de alto voltaje a 6 Hz cuya frecuencia aumentó gradualmente (8 Hz) hasta el último ensayo (K 30). No se generalizó a las amígdalas ni apareció actividad convulsiva. Ocasionalmente se observaron espigas propagadas a todas las estructuras (ver fig. 5).

Los cambios de la actividad eléctrica durante el kindling amigdalino en presencia de dosis repetidas de naloxona, fueron más drásticos, los cuales se refieren a continuación en forma secuencial:

- a) Actividad cortical de alto voltaje a 6 Hz.
- b) Actividad de alto voltaje de 8 a 10 Hz, propagada a todas las estructuras.
- c) Actividad paroxística y espigas de alto voltaje propagadas a todas las estructuras.
- d) Crisis convulsivas generalizadas.

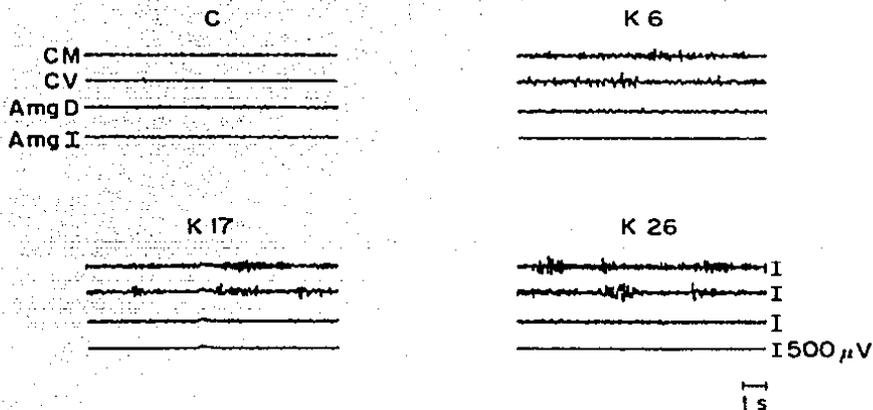


Fig. 5. Cambios progresivos de la actividad eléctrica entre los intervalos de estimulación, durante el desarrollo de kindling amigdalino. Abreviaciones igual que en la fig. 1. C, control; K6, actividad de alto voltaje a 6 Hz; K 17 y 26 aumenta el voltaje de la actividad eléctrica así como su frecuencia (8 Hz). Estos cambios no se propagan a las amígdalas cerebrales.

El tiempo de aparición de dichos cambios dependió de la dosis administrada, ya que con 8 mg/kg fue más corto en comparación con el observado con 2 y 4 mg/kg. En la fig. 6 se muestran los cambios electrográficos antes descritos en los registros de un experimento en el que se administró 4 mg/kg cada 15 min.

La producción de actividad convulsiva en este grupo también dependió de la dosis: con 18 administraciones de 2 mg/kg no se observó, con 15 administraciones de 4 mg/kg

apareció en 3 de 4 animales y con 8 administraciones de 8 mg/kg se presentó en los 4 animales utilizados. Uno de los animales de este grupo (8 ♀) presentó estatus epiléptico.

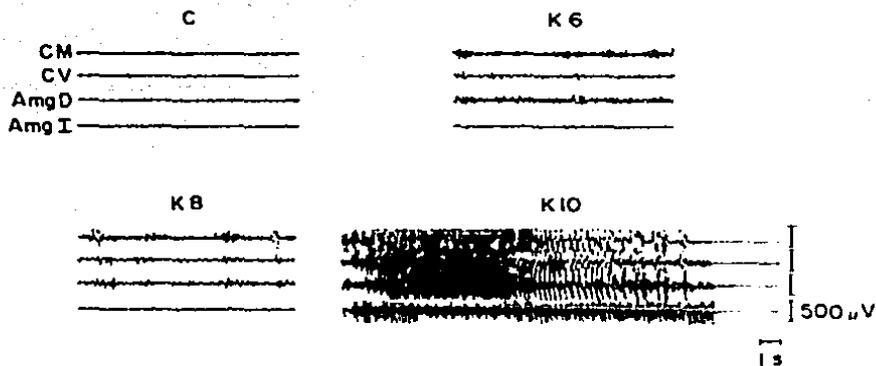


Fig. 6. Cambios progresivos de la actividad eléctrica entre los intervalos de estimulación, durante el desarrollo del kindling amigdalino y la administración de 4 mg/kg. Abreviaciones igual que en la fig. 1. C, control; K6, actividad de alto voltaje a 8 Hz localizada en las cortezas y AmgD; K8, actividad de mayor voltaje que en el registro anterior, y con frecuencia de 10 Hz; K10, CCG que apareció sin estimulación eléctrica.

En la figura 7 se muestra el registro de una CCG que apareció sin estimulación eléctrica, después de 10 administraciones de 4 mg/kg de naloxona durante el kindling amigdalino.

En los registros del grupo de kindling solo así como el de kindling y naloxona, no hubo cambios importantes en la frecuencia cardíaca y presión arterial, ya que se mantuvieron con valores semejantes a los de registros controles.

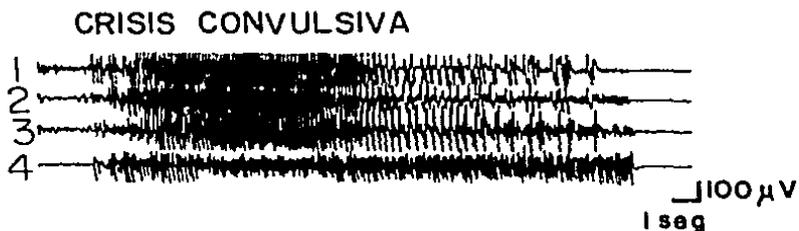


Fig. 7. Registro electrográfico de una CCG súbita, producida después de la aplicación de 10 administraciones de 4 mg/kg de naloxona durante el desarrollo del kindling amigdalino. 1. corteza motora; 2. corteza visual; 3. amígdala derecha; 4. amígdala izquierda.

Experimento II

En estudios previos, se describe que la naloxona precipita la aparición de actividad convulsiva en algunos modelos experimentales o naturales de epilepsia (Schreiber, 1979; Meldrum y col., 1979 y 1981; Bajorek y Lomax, 1982; Lee y col., 1984; Puglisi-Allegra y col., 1984 y 1985; Massoti y col., 1984; Spillantini y Massoti, 1986). También se sabe que la aplicación de dosis altas de naloxona (mayores de 32 mg/kg) produce actividad convulsiva en monos (Snyder y col., 1981) y en ratones (100 mg/kg) (Calder y col., 1982). En el experimento I de este trabajo, se encontró que la naloxona acelera el desarrollo del kindling amigdalino en gatos en preparación encéfalo aislado. Para este experimento se decidió investigar los cambios que produce por la administración repetida de dosis no convulsivantes de naloxona sola y asociada a estimulación luminosa intermitente (ELI), en la actividad electroencefalográfica de gatos en preparación encéfalo aislado.

Se analizó la actividad eléctrica de la CM, CV, AmgD y AmgI. Se utilizaron 3 grupos de estudio: en el primero se aplicaron (i.v.) dosis de 2, 4 y 8 mg/kg cada 15 min durante 40, 20 y 10 ensayos respectivamente (n=3 por dosis). En el segundo grupo se administró naloxona de manera similar al

grupo anterior y ELI a 1, 3 y 10 Hz durante 1 min para cada frecuencia, cada 15 min (n=4 por dosis). Al tercer grupo (n=2) se le aplicó (i.v.) 1 ml de solución salina y ELI con las mismas características que en el segundo grupo, cada 15 min y por 20 ensayos (ver apéndice).

Se obtuvo el registro poligráfico del EEG de las estructuras implantadas (ver apéndice).

Debido a que el EEG es un conjunto de señales eléctricas obtenidas del cerebro, las que a su vez se componen de ondas sinusoidales, resulta importante conocer la frecuencia de estas ondas, ya que este parámetro se relaciona con el estado del sistema que las origina, en este caso el cerebro. Con base en lo anterior y con el propósito de conocer las frecuencias predominantes del EEG en el registro control así como durante el efecto de la naloxona, para este experimento se decidió analizar su espectro de potencia (ver apéndice).

El efecto de la naloxona así como la de cualquier otra sustancia, depende de la cantidad que se administra, de su farmacocinética, así como del tiempo que permanece en los receptores específicos. Ya que se describe que la concentración plasmática de esta sustancia es igual a la del cerebro, (Berkowitz, 1976) y que su vida media en el gato es de 137

min aproximadamente (Curtis y Lefer, 1982), se calculó teóricamente la cantidad de naloxona acumulada en plasma, producto de su administración repetida con cada dosis utilizada. Inicialmente, se determinó la evolución de su acumulación en el plasma producida por la administración (i.v.) repetida de 2, 4 y 8 mg/kg. Después, se calculó la naloxona presente en plasma en el momento en que se inició la actividad paroxística y convulsiva con cada una de las dosis (ver apéndice).

Resultados

La administración repetida (i.v.) de naloxona sola provocó cambios progresivos en el EEG de las estructuras registradas, los que se describen de manera secuencial a continuación:

- a) Actividad cortical de alto voltaje de 4 a 6 Hz.
- b) Actividad rítmica de 12 Hz en ambas amígdalas cerebrales.
- c) Actividad eléctrica sincrónica, bilateral y de alto voltaje (mayor de 300 μ V) en las 4 estructuras registradas.
- d) Actividad paroxística propagada a todas las estructuras.
- e) Crisis convulsivas generalizadas (CCG) tónico-clónicas que se iniciaron en la CM y CV, para después propagarse a las amígdalas cerebrales.

El tiempo en el que aparecieron los cambios electrográficos descritos dependió de la dosis administrada, ya que con 8 mg/kg fué más corto que el obtenido con las dosis de 2 y 4 mg/kg. Por otra parte, la administración repetida 2 mg/kg provocó CCG en 2 animales con 26 y 36 administraciones respectivamente, mientras que los otros 2 animales que recibieron el mismo tratamiento, necesitaron de 40 administraciones y 2 adicionales de 8 mg/kg; con 4 y 8 mg/kg se indujo actividad convulsiva en todos los animales, con un promedio de 18 y 8 administraciones respectivamente. Un animal con 4 mg/kg y 2 con 8 mg/kg presentaron estatus epiléptico.

En la fig. 8 se representan los cambios electroencefalográficos antes descritas en los registros del EEG de un experimento en el que se administró 2 mg/kg de naloxona cada 15 min.

En el espectro de potencia de la actividad eléctrica cerebral también se observaron cambios progresivos. En los controles aparecieron frecuencias con diferentes densidades espectrales en cada una de las estructuras registradas. Con las primeras administraciones aumentó la densidad espectral para frecuencias de 3 a 5 Hz en todas las estructuras. Con dosis subsecuentes aumentó la densidad espectral para fre-

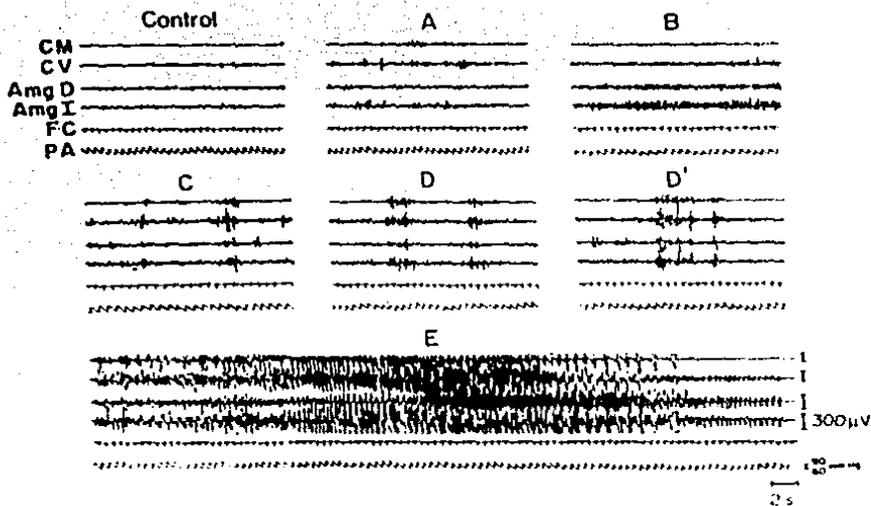


Fig. 8. Cambios electroencefalográficos progresivos producidos por la administración (i.v.) de 2 mg/kg de naloxona sola cada 15 min. CM, corteza motora; CV, corteza visual; Amg D, amígdala derecha; Amg I, amígdala izquierda; FC, electrocardiograma; PA, presión arterial. A-. Actividad lenta y de alto voltaje en la CM y CV después de 2 administraciones; B-. Actividad rítmica a 12 Hz en Amg D y Amg I después de 4 administraciones. C-. Actividad bilateral, sincrónica y de alto voltaje propagada a todas las estructuras, después de 18 administraciones. D y D'-. Actividad paroxística propagada a todas las estructuras, después de 26 administraciones. E-. CCG después de 36 administraciones.

cuencias más rápidas (6 a 12 Hz). En ocasiones, después de la administración de cada dosis, se observó disminución de la densidad en todo el rango de frecuencia, fenómeno

concomitante a una reacción de despertar electrográfica. Por último, la aparición de paroxismos y CCG en el EEG se asoció a aumento de la densidad de todo el rango de frecuencias (0-20 Hz). Los cambios descritos se observaron con las 3 dosis utilizadas, siendo la evolución más rápida con 8 mg/kg y más lenta con 2 mg/kg.

En las fig. 9 y 10 se muestran los espectros de potencia de 2 experimentos en los que dieron administraciones repetidas de 2 y 8 mg/kg respectivamente. Se aprecian cambios progresivos desde las primeras dosis hasta la aparición de CCG en las que hay aumento de la densidad espectral de todas las frecuencias, principalmente de 3 a 10 Hz. Con 8 mg/kg se establece estatus epiléptico después de la administración 9 (D 9), que dura hasta 180 min después de la D 10.

En el segundo grupo de este estudio, la administración de naloxona y ELI a 1, 3 y 10 Hz cada 15 min provocó cambios electrográficos importantes. Durante el registro control, la ELI indujo respuestas localizadas en la CV, las que aumentaron en amplitud y se propagaron a las demás estructuras con las primeras administraciones. Posteriormente la ELI provocó paroxismos generalizados que se hicieron más frecuentes y de mayor duración hasta culminar con la aparición de CCG, principalmente con ELI a 10 Hz. En el intervalo sin estimula-

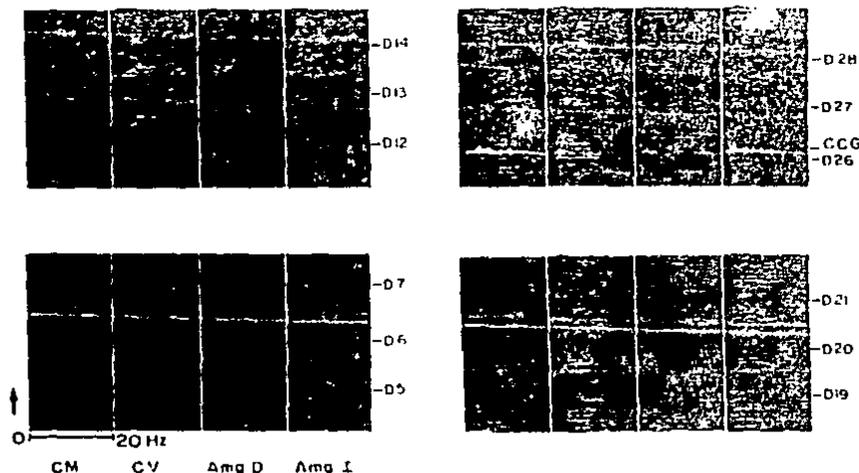


Fig. 9. Espectro de potencia del EEG de un experimento en el que se administró 2 mg/kg de naloxona (i.v.) cada 15 min. CM, corteza motora; CV, corteza visual; AmgD, amígdala derecha; AmgI, amígdala izquierda; D, número de administraciones; CCG, crisis convulsiva generalizada. La flecha indica la dirección en la que se debe leer este análisis. El rango de frecuencias fue de 0 a 20 Hz. Antes de la administración 12 solamente se observa mayor densidad espectral en 5 y 10 Hz en la AmgI. Posteriormente (D12 a D25) la densidad espectral aumenta de 3 a 10 Hz en todas las estructuras, y progresivamente abarca frecuencias más rápidas. Después de la D26 aparece una CCG, que se caracteriza por aumento de la densidad espectral en todo el rango de frecuencias y en todas las estructuras.

ción sensorial, el EEG mostró los mismos cambios descritos en el primer grupo. Un animal con 4 mg/kg y 3 con 8 mg/kg presentaron estatus epiléptico.

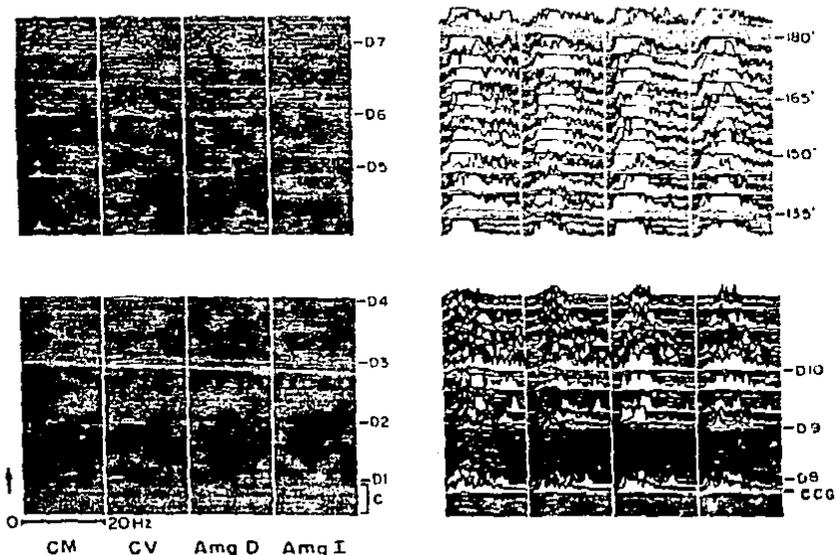


Fig. 10. Espectro de potencia del EEG de un experimento en el que se administró 8 mg/kg de naloxona (i.v.) cada 15 min. Abreviaciones igual que la fig. 9. En el control (C) no hay predominio de densidad de alguna frecuencia. Con las primeras administraciones (D1-D4) aumenta la densidad de las frecuencias de 3 a 5 Hz. Con administraciones subsiguientes (D5-D7) aumenta la densidad espectral para frecuencias de 5 a 12 Hz en todas las estructuras, con un pico predominante en 6 Hz. Antes de la D8 aparece la primera CCG. Con la D9 la actividad convulsiva es más frecuente hasta que se establece estatus epiléptico, el cual se observó 180 min después de la D10.

En cuanto al espectro de potencia de este grupo, las respuestas a la ELI en el registro control localizadas principalmente en la CV, se caracterizaron por aumento de la

densidad espectral de frecuencias específicas, dependiendo de la estimulación: con ELI a 1 Hz aumentó la densidad para el rango de 3 a 19 Hz; con ELI a 3 Hz aumentó la densidad para 3, 6, 9, 12, 15 y 18 Hz; con ELI a 10 Hz se obtuvo aumento de la densidad solamente en 10 Hz. Con la administración repetida de naloxona, aumentó la densidad espectral de las frecuencias antes referidas y en cada una de las estructuras registradas. Posteriormente, los paroxismos y CCG se identificaron en el espectro de potencia por aumento de la densidad espectral en toda la banda de frecuencias en las 4 estructuras, siendo mayor en las CCG (ver fig. 11).

La comparación y aplicación de la prueba "T-student" a los valores de las cantidades totales de naloxona que se administraron hasta la aparición de la primera CCG en los dos primeros grupos de este experimento, mostró que, con 2 y 4 mg/kg se necesitaron cantidades menores en el grupo en el que se aplicó con ELI, en comparación con el grupo en el que se dió sola. Desde el punto de vista estadístico no hubo diferencias significativas entre ambos grupos con la aplicación de 8 mg/kg. En la tabla II se indican las cantidades totales de naloxona que se administraron en ambos grupos hasta la aparición de la primera CCG.

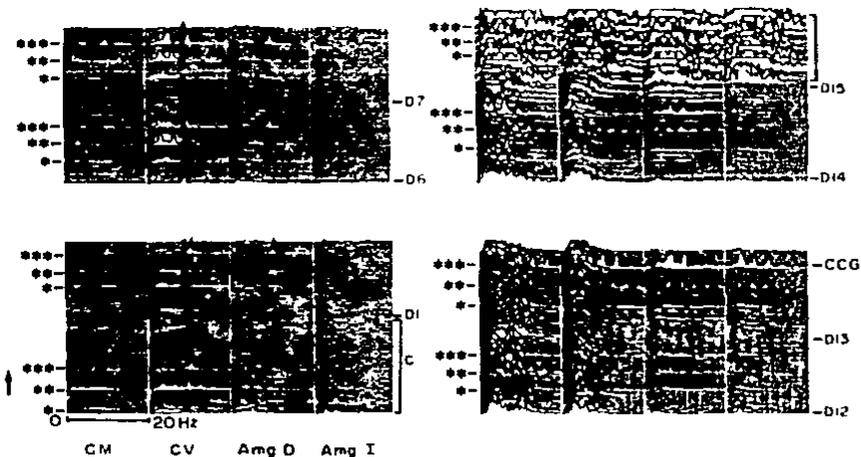


Fig. 11. Espectro de potencia del EEG de un experimento en que se administró 4 mg/kg de naloxona (i.v.) y ELI a 1(*), 3(**), y 10 (***) Hz cada 15 min. Abreviaciones igual que en la fig. 9. En el control (C), con ELI a 1 Hz hay mayor densidad en el rango de 3 a 17 Hz; con 3 Hz aumenta la densidad para 3, 6, 9, 12 y 15 Hz; con 10 Hz solo hay incremento de la densidad en 10 Hz. La densidad de las respuestas, que inicialmente es mayor en la CV, aumenta en las demás estructuras con la administración repetida de naloxona. La primera CCG aparece después de la D13 y con la ELI a 10 Hz. Con la D15 se establece estatus epiléptico.

Tabla 11. Cantidades totales de naloxona y en paréntesis el número de ensayos necesarios para producir CCG cuando se administra sola (N) y con ELI (N+ELI).

Dosis mg/kg	N	N+ELI
2	88 (44) \pm 29.5	34 (17) \pm 0 **
4	68 (17) \pm 7.48	53.3 (13) \pm 1.24 *
8	52 (7) \pm 12.0	40.0 (5) \pm 8.0 NS

** $p < 0.001$

* $p < 0.01$

NS no significativo.

La administración sistémica de una sustancia en el organismo, se acumula progresivamente en plasma, dependiendo de su tiempo de vida media, su constante de eliminación y el intervalo de administración. Por medio de operaciones matemáticas es posible determinar teóricamente, la cantidad de dicha sustancia en el plasma (ver apéndice). Al aplicar este cálculo a las administraciones repetidas (i.v.) de naloxona, se encontró que, con 40 administraciones de 2 mg/kg se alcanza una cantidad en plasma de 26 mg/kg, con 20 administraciones de 4 mg/kg se obtienen 39 mg/kg y con 10 administraciones de 8 mg/kg de 50 mg/kg. Con base en los resultados obtenidos se determinó la cantidad de naloxona en plasma presente durante la aparición de actividad convulsiva en los

dos primeros grupos de este experimento. Con 2 mg/kg las cantidades presentes en plasma durante la aparición de dichas actividades fueron de 25 mg/kg en el grupo en que se dió naloxona sola y 19.8 mg/kg en el que se dió con ELI. Con 4 mg/kg las cantidades fueron de 39.6 mg/kg en el primero y de 33.3 mg/kg en el segundo. Con 8 mg/kg las cantidades fueron de 40 mg/kg para el primer grupo y de 34.5 mg/kg para el segundo. Como se puede apreciar, se necesitó de menor cantidad plasmática de naloxona para producir actividad convulsiva en el grupo en el que se aplicó ELI en comparación al grupo en el que se dió sola (ver fig. 12).

El tercer grupo de este experimento no presentó cambios electrográficos importantes por la ELI y administración repetida de 1 ml de solución salina. En el espectro de potencia se observó mayor densidad en las frecuencias ya descritas en el control del segundo grupo, la cual no se modificó durante el tiempo de experimentación. En este experimento, así como en el I, no se observaron cambios importantes en el registro de la presión arterial y frecuencia cardiaca durante el efecto de la naloxona.

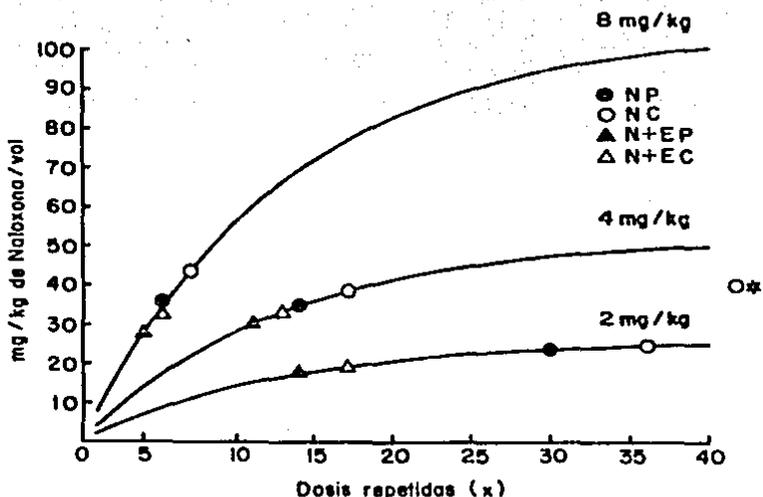


Fig. 12. Curvas que representan las cantidades teóricas de naloxona acumuladas en plasma, inducidas por administraciones repetidas (i.v.) de 2, 4 y 8 mg/kg, cada 15 min, tomando en cuenta una vida media para esta sustancia de 137 min. La curva inferior muestra la acumulación alcanzada con 2 mg/kg, la curva media con 4 mg/kg y la superior con 8 mg/kg. En la abscisa se indica el número de administraciones y en la ordenada la cantidad de naloxona en plasma. Se aprecia que, con la administración repetida de cada dosis, la cantidad de naloxona en plasma aumenta progresivamente. En cada curva se indica la cantidad de naloxona en el momento de aparición de la actividad paroxística (NP) y convulsiva (NC) cuando se administra sola, así como la actividad paroxística (N+EP) y convulsiva (N+EC) cuando se asocia a ELI. Ambas actividades se presentaron con menor cantidad plasmática cuando se dió ELI, siendo más significativa la diferencia con 2 mg/kg. * representa la cantidad de naloxona en plasma alcanzada con 40 administraciones de 2 mg/kg y 2 administraciones posteriores de 8 mg/kg, que se dieron en 2 gatos para producir CCG con naloxona sola.

Experimento III

En el experimento II de este estudio, se encontró que la administración (i.v.) repetida de naloxona en gatos con la preparación de encéfalo aislado, produce actividad convulsiva cuando se alcanzan dosis totales de 34 a 88 mg/kg (ver tabla II). Considerando que, cuando la naloxona se introduce al organismo, sufre una serie de cambios de acuerdo a su farmacocinética, es posible postular que la cantidad total necesaria de la misma para producir actividad convulsiva, no es la misma cuando se administra en dosis únicas o de manera repetida.

El experimento III se realizó con el propósito de investigar que cantidad total de naloxona es necesaria aplicar (i.v.) en una sola administración, en el gato en encéfalo aislado, para producir actividad convulsiva. También se consideró importante analizar los cambios inducidos por la naloxona en los potenciales evocados visuales (PEV), ya que dichas señales eléctricas pueden ser un buen parámetro para evaluar la excitabilidad nerviosa. Asimismo, se conoce que los PEV de pacientes con epilepsia, presentan cambios de amplitud y latencia (Lucking, Creutzfeld y Heinemann, 1970) así como los de algunos modelos experimentales de epilepsia (Fernández-Guardiola, Roldán y Guzmán, 1957; Rodin y col., 1966).

El efecto convulsivante de la naloxona puede asociarse a su antagonismo en la acción inhibitoria de los opioides endógenos. Con base en lo anterior, también se decidió analizar el efecto de dosis únicas convulsivantes de naloxona asociado al del fentanil, que es un agonista específico de receptores mu de los opioides endógenos.

Para este experimento, se usaron gatos en preparación encéfalo aislado, en los que se registró el EEG de la CM, CV, AmgD y AmgI. En un grupo de 5 animales, se analizaron los efectos electrográficos de diferentes dosis de naloxona (i.v.) (5, 10, 20, 30 y 40 mg/kg) (n=1 por dosis). En un segundo grupo de animales, se analizó el efecto de la administración (i.v.) de una dosis convulsivante de naloxona sola (n=3), asociada a fentanil (100 µg/kg) (n=2) y de fentanil solo (n=1). A todos los animales se les provocó midriasis por medio de la aplicación de atropina en la córnea.

Antes y después de la administración de la naloxona se dieron ELI a 1, 3 y 10 Hz durante 1 min para cada frecuencia, cada 15 min. Las respuestas eléctricas a la estimulación luminosa se grabaron y posteriormente se obtuvieron promedios de 64 PEV de la CM, CV, AmgD y AmgI. Se cuantificaron las amplitudes pico a pico y los tiempos de latencia para cada uno de los componentes de los potenciales. También se

analizaron los cambios presentados en el EEG y espectro de potencia de cada experimento hasta 4 hrs después de la administración de la naloxona (ver apéndice).

Resultados

a) Cambios electrográficos provocados por la administración de diferentes dosis de naloxona sola.

La aplicación (i.v.) de las diferentes dosis de naloxona en gatos en preparación encéfalo aislado provocó cambios progresivos en el EEG, así como en los PEV, que duraron hasta el final del experimento (4 hrs después de la administración). Con 40 mg/kg se indujo actividad convulsiva generalizada durante 13 min, que se inició inmediatamente después de terminar la administración. Posteriormente aparecieron paroxismos generalizados que permanecieron hasta el final del experimento (3 hrs). Con 30 mg/kg inicialmente se presentó una CCG de 1 min de duración, después aparecieron paroxismos generalizados que disminuyeron en frecuencia y propagación hasta localizarse en la CM y CV. Por último se observó actividad lenta (6 Hz) y de alto voltaje en ambas cortezas. Con la dosis de 20 mg/kg aparecieron paroxismos corticales y espigas de alto voltaje en ambas amígdalas que se observaron durante las 4 hrs de registro. Se provocó

actividad convulsiva cuando, a los 5 min después de la administración, se aplicó ELI a 10 Hz. Con 10 mg/kg se presentaron espigas de alto voltaje en todas las estructuras, principalmente en las amígdalas cerebrales, durante todo el tiempo de experimentación. En ocasiones la CM y CV mostraron actividad lenta y de alto voltaje. Con la dosis de 5 mg/kg se presentó disminución del voltaje y aumento de la frecuencia de la actividad eléctrica de ambas cortezas, cambios que se observaron durante los 10 primeros min después de la administración y posteriormente, el EEG fué similar al control.

En el registro control del espectro de potencia del EEG se encontró en todas las estructuras y principalmente en la CV que, con ELI a 1 Hz aparece mayor densidad espectral de las frecuencias de 3 a 19 Hz, de 3, 6, 9, 12, 15 y 18 Hz con ELI de 3 Hz y de 10 Hz con ELI de 10 Hz. Con la administración de cada una de las dosis de naloxona, la densidad espectral de las respuestas de la CV aumentó de manera progresiva y durante todo el tiempo de experimentación, las que a su vez se propagaron a las demás estructuras, inicialmente a la CM y por último en las amígdalas. El aumento de la densidad espectral dependió de la cantidad administrada, ya que a mayor dosis mayor fué el aumento. El incremento de la densidad espectral de las respuesta a la ELI en la CM y amígdalas así como la duración de ese efecto también

dependieron de la cantidad de naloxona administrada, debido a que fueron mayores y más duraderas (hasta 4 hrs) con las dosis altas (20, 30 y 40 mg/kg), mientras que con las dosis bajas (5 y 10 mg/kg) la densidad espectral fué similar a la del registro control después de 30 min.

El análisis de los PEV registrados en la CV por ELI a 1 Hz no mostró cambios significativos de los tiempos de latencia de los componentes N1-P1 (12 a 60 ms), P1-N2 (44-94 ms) y N2-P2 (65-120 ms) con la administración de naloxona. Con cada una de las dosis utilizadas, la amplitud pico a pico de todos los componentes inicialmente disminuyó hasta un 30% con respecto al control, y entre 60 y 80 min después de la administración, aumentó progresivamente. Los valores más altos se obtuvieron con 40 mg/kg, además de que estos rebasaron significativamente a los obtenidos con las demás dosis. A los 240 min después de la administración de cada una de las dosis de la naloxona, la amplitud pico a pico de los componentes siempre fue mayor a la obtenida en el control. Es importante hacer notar que en los experimentos en los que se provocó actividad convulsiva, los PEV se obtuvieron al terminar la misma.

En la fig. 13 se muestran los PEV de la CV producidos por ELI a 1 Hz durante el efecto 10 mg/kg (i.v.) de naloxona. Se aprecia que los PEV son de mayor amplitud que los controles.

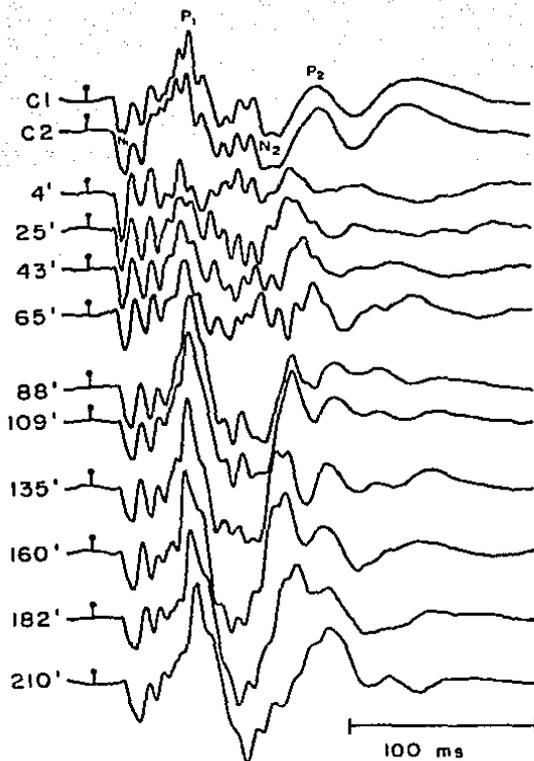


Fig. 15. Cambios de los potenciales evocados visuales (PEV) en la CV por ELI a 1 Hz, durante el efecto de 10 mg/kg (dosis única) de naloxona (i.v.). Cada registro es el resultado del promedio de 64 PEV, con un tiempo de análisis de 250 ms. En C1 se indica cada componente. C1 y C2 son controles y posteriormente se muestra el tiempo en el que se adquirió cada promedio después de la administración de la naloxona. Nótese que la amplitud de los componentes aumenta progresivamente desde el min 88 hasta el min 210.

En la figura 14 se representan en porcentajes las amplitudes máximas obtenidas por cada componente y con cada dosis. En esta figura se aprecia que los valores más altos se obtuvieron con la administración de 40 mg/kg, principalmente en N2-P2 que fue hasta 4 veces mayor que los incrementos observados con las demás dosis.

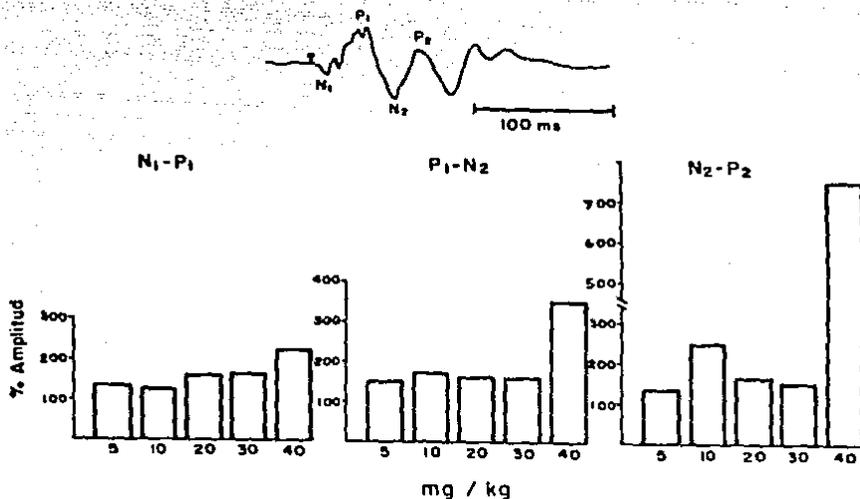


Fig. 14. Amplitud máxima alcanzada en las medidas pico a pico de los componentes N1-P1, P1-N2 y N2-P2 de los PEV de la CV por ELI a 1 Hz, durante el efecto de dosis únicas de naloxona (5, 10, 20, 30 y 40 mg/kg i.v.). Cada valor rebasó al obtenido en los controles (100 %). Nótese que con 40 mg/kg las medidas pico a pico alcanzaron los valores más altos, principalmente en N2-P2, el cual aumentó hasta un 750%. En la parte superior de la figura se indican los componentes de un PEV de la CV.

Los PEV registrados en la CM, AmgD y AmgI aumentaron con la administración de naloxona. El tiempo en el que se observó de dicho incremento dependió de la dosis: con 10 y 30 mg/kg se observó hasta 200 min después, con 20 mg/kg 42 min, con 10 mg/kg 4 min y con 5 mg/kg 2 min.

b) Cambios electrográficos producidos por la aplicación de naloxona sola y con fentanil.

La administración (i.v.) de 40 mg/kg de naloxona sola en 3 animales en preparación encéfalo aislado, provocó actividad convulsiva generalizada durante 13 min promedio, seguida de actividad paroxística y espicular en todas las estructuras, hasta el final de los experimentos (4 hrs). Cuando se aplicó en 2 animales la misma cantidad de naloxona con previa administración de 100 µg/kg de fentanil, se observó la aparición de actividad paroxística y espicular, de alto voltaje y generalizadas a todas las estructuras, durante 14 min. No hubo actividad convulsiva. La administración de 100 µg/kg de fentanil sola en el gato no provocó cambios electrográficos importantes.

Los potenciales evocados visuales de estos experimentos se obtuvieron a los 30 min después de la administración de la naloxona. Con la administración de 40 mg/kg de esta sustan-

cia sola, todos los componentes de los PEV (N1-P1, P1-N2 y N2-P2) presentaron aumento de su amplitud de 200% a 350% (promedio de los 3 gatos). Después disminuyeron progresivamente, pero sin alcanzar los valores de los controles en el min 240 (ver fig. 15).

En los animales en los que se aplicó 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de fentanil previamente a la dosis de 40 mg/kg de naloxona, se observó que los componentes N1-P1 y P1-N2 presentaron una evolución similar a la de los animales en los que se dió sola. El componente N2-P2 mostró una amplitud de 225% en el min 30 después de la naloxona, en el min 60 su amplitud fué similar a la del control y posteriormente disminuyó hasta el 75% en el min 240 (ver fig. 15).

La aplicación única de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de fentanil no produjo cambios importantes en la amplitud de los componentes de los PEV.

Se compararon los cambios de la amplitud de los PEV y la cantidad teórica de naloxona en plasma durante el tiempo de experimentación. Esta última se cuantificó de manera similar que en el experimento II. Se encontró que, cuando se da una dosis de 40 mg/kg de esta sustancia sola, los componentes de los PEV no disminuyen de manera paralela a la disminución de naloxona en plasma (ver fig. 15).

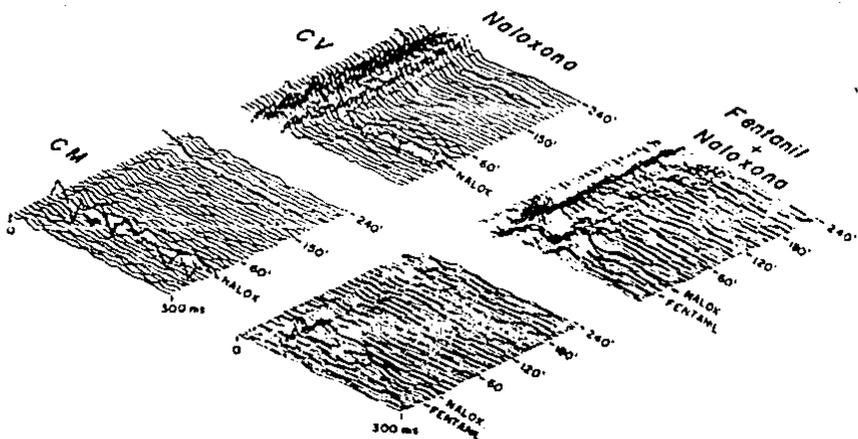


Fig. 15. Potenciales evocados visuales (PEV) durante el efecto de 40 mg/kg de naloxona sola y con previa administración de 100 μ g/kg de fentanil. Se puede apreciar que los componentes de los PEV de la CV durante el efecto de la naloxona sola (registro superior izquierdo) aumentan de amplitud durante todo el tiempo de registro después de la administración (240 min). Cuando se aplica fentanil y naloxona (registro superior derecho), el incremento de los PEV se observa en los primeros minutos, y posteriormente los componentes tempranos son mayores al control, mientras que los tardíos disminuyen. Los PEV registrados en la CM (registros inferiores) en ambas circunstancias, presentan aumento durante los primeros minutos después de la aplicación de la naloxona, posteriormente disminuyen.

Experimento IV

En el experimento II de este trabajo se encontró que la administración repetida de dosis bajas de naloxona (2, 4 y 8 mg/kg i.v.) en gatos con la preparación de encéfalo aislado, produce cambios electrográficos progresivos que culminan con actividad epiléptica. Sin embargo, en esta preparación, no es posible evaluar los cambios conductuales producidos por esta sustancia.

El experimento IV se realizó con el propósito de analizar los cambios conductuales inducidos por la administración (i.p.) repetida de dosis no convulsivantes de naloxona sola y asociada a estimulación sensorial, en gatos íntegros, en libre movimiento y sin electrodos implantados.

Se utilizaron tres grupos de experimentación. En el primer grupo (n=5) se aplicaron 8 mg/kg i.p. de naloxona y estimulación sensorial cada 15 min hasta presentar CCG. La estimulación sensorial consistió en estimulación luminosa y acústica intermitente a 1, 3, 10 y 15 Hz (ver apéndice).

En el segundo grupo (n=3) se administró naloxona de manera similar al primer grupo, pero sin estimulación sensorial. En ambos grupos se aplicó naloxona hasta producir

CCG. En el tercer grupo (n=3) los animales se sometieron al mismo tipo de estimulación sensorial que la aplicada al primer grupo, y administración i.p. de 1 ml de solución salina cada 15 min.

Los animales se mantuvieron en una cámara sonoamortiguada de 60 cms por lado en donde se les aplicó la estimulación sensorial. Para analizar más detalladamente los cambios conductuales de los animales, cada experimento se grabó en videocinta. Las conductas presentadas por los animales se observaron durante todo el tiempo de realización del experimento y en 2 ocasiones después del mismo. Con base en la frecuencia y tiempo de aparición de las manifestaciones conductuales observadas, se establecieron fases.

Resultados

La administración repetida de naloxona (i.p.) y estimulación sensorial en gatos íntegros y en libre movimiento, provocó cambios conductuales progresivos que fueron desde una actitud de sueño (somnia) con las primeras dosis hasta la aparición de CCG clónico-tónicas-clónica.

Se establecieron 6 fases, las que se describen a continuación:

Fase I-. Todos los animales presentaron actitud de sueño (somnolencia) con las primeras administraciones.

Fase II-. Se caracterizó por la aparición de paroxismos parciales, movimientos repetitivos de cabeza, vómito, contracción de la musculatura facial, lengüeteo, salivación y micción.

Fase III-. Se presentaron los mismos signos de la fase anterior excepto micción y vómito, y se adicionó la presencia de paroxismos generalizados y polipnea.

Fase IV-. Además de los signos encontrados en la fase III, los animales presentaron hipoactividad motora.

Fase V-. En esta fase se presentaron paroxismos parciales y generalizados, contracción de la musculatura facial, lengüeteo, salivación, polipnea y culminó con la aparición de CCG clónico-tónicas.

Fase VI-. Después de la fase tónica de la actividad convulsiva, todos los animales se pusieron de pie, con aumento de la base de sustentación y mostrando rigidez de los miembros. No se observó depresión conductual postictal.

Este grupo necesitó de un promedio de 11.3 administraciones de naloxona para producir CCG, equivalente a 90.4 mg/kg, con un error estandar de 0.89. Posteriormente se observó la recuperación de los animales. Solamente un gato presentó estatus epiléptico y muerte.

En el segundo grupo experimental se presentaron las mismas fases encontradas en el primero. Sin embargo, la frecuencia de aparición e intensidad de cada manifestación fue menor y no se observó la hipoactividad antecedente a las crisis convulsivas. Este grupo necesitó de 10.2 administraciones de naloxona para presentar la primera CCG, equivalente a 81.6 mg/kg, con un error estandar de 1.92. Todos los animales presentaron estatus epiléptico y muerte.

En ambos grupos, la probable causa de muerte de los animales fué anoxia debido al establecimiento de estatus epiléptico que se consideró como tal cuando la actividad convulsiva fue continua durante 10 min o más.

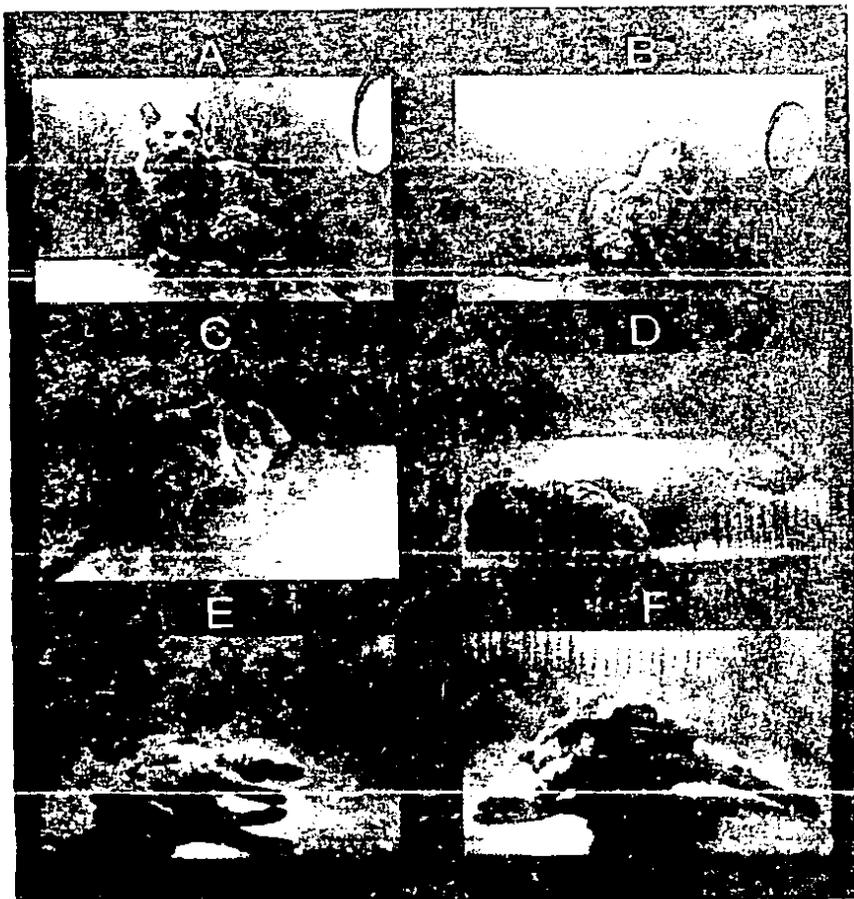
En la tabla III se indican las manifestaciones encontradas en cada una de las fases producidas por la administración repetida de naloxona sola y con estimulación sensorial. En la fig. 16 se muestran algunas conductas presentadas en ambos grupos, desde un registro control hasta la aparición de

actividad convulsiva.

Los animales del tercer grupo inicialmente mostraron atención a la estimulación sensorial, posteriormente se adaptaron y presentaron actitud de sueño hasta el final del experimento.

Tabla III. Manifestaciones conductuales producidas por la administración i.p. cada 15 min. de naloxona (8 mg/kg) y estimulación sensorial.

Fase	Manifestaciones conductuales
I	Somnolencia
II	Mioclónicas, movimientos repetitivos de cabeza, vómito, contracción de músculos faciales, lengüeteo, salivación y micción
III	Paroxismos generalizados, contracción de músculos faciales, lengüeteo, salivación y polipnea
IV	Las manifestaciones encontradas en la fase anterior más hipoactividad motora
V	Las manifestaciones encontradas en la fase anterior más crisis convulsivas generalizadas
VI	Hipertonía muscular postictal. Ausencia de relajación muscular postictal



Pie de figura en la siguiente página.

Fig. 16. Cambios conductuales progresivos producidos por la administración repetida de naloxona (8 mg/kg i.p.) cada 15 min en animales íntegros y en libre movimiento. A, el animal está atento a la estimulación sensorial; B, la estimulación sensorial produce mioclonias de cabeza y orejas después de las primeras administraciones (4 a 5); C y D, crisis convulsiva generalizada en su fase clónica y tónica respectivamente; E, el animal se pone de pie al final de la actividad convulsiva, con la base de sustentación aumentada e incremento de la tensión muscular.

DISCUSION

El efecto de sustancias antagonistas de los opioides endógenos se describe en trabajos previos. Hardy y col. (1980) encontraron que la aplicación de 1 mg/kg (i.p.) de naloxona en ratas antes de cada estimulación eléctrica durante el desarrollo de kindling amigdalino, acelera la aparición de crisis convulsivas. Por su parte, Cottrell y col. (1984) refirieron que la aplicación (s.c. o i.c.v.) de naltrexona disminuye la depresión conductual postictal de las crisis convulsivas producidas por el kindling eléctrico amigdalino o hipocampal de ratas.

En este trabajo (experimento I) se encontró que la preparación encéfalo aislado de gato es adecuada para producir el kindling amigdalino, debido a que la estimulación eléctrica umbral provoca incremento progresivo de la duración y propagación así como de la frecuencia de las espigas de la postdescarga. Con 30 ensayos de estimulación eléctrica no se produce actividad epiléptica. Estos resultados están de acuerdo con lo descrito por Goddard y col. (1969) quienes indicaron que para producir CCG con estimulación eléctrica cada 15 min, se necesitan de aproximadamente 70 ensayos.

La administración repetida de diferentes dosis de naloxona (2, 4 u 8 mg/kg) durante la producción de kindling eléctrico amigdalino, produce que la PD se propague más rápidamente a las demás estructuras y que el aumento progresivo de su duración y principalmente de la frecuencia de las espigas de la misma sean mayores; en comparación de cuando se desarrolla solo. Asimismo, es posible provocar actividad convulsiva con un número menor de ensayos. Cuando se deja de administrar la naloxona, el kindling amigdalino involuciona y su desarrollo es similar al presentado cuando no se aplica esa sustancia. Esto se puede deber a que, durante este fenómeno existe liberación de opioides endógenos (Vindrola y col., 1981 a, b), cuyo efecto es antagonizado por la naloxona por lo que el kindling evoluciona más rápido. Cuando ésta se deja de aplicar, persiste la liberación de los opioides endógenos, y con ellos su efecto inhibitorio. Los opioides endógenos liberados durante las crisis convulsivas por choques eléctricos, tienen un efecto similar, ya que impiden la aparición de actividad convulsiva durante el kindling eléctrico amigdalino en ratas, mientras que la naloxona la favorece (Shavit y col., 1984).

Durante el desarrollo del kindling amigdalino, es posible observar un proceso de epileptogénesis en los registros del EEG de los intervalos interestímulos, el cual es más rápi-

do y evoluciona hasta la aparición de actividad convulsiva con aplicación de naloxona y sin estimulación eléctrica.

En este estudio se encontró también que la administración repetida de naloxona (2, 4 u 8 mg/kg) (experimento II) en la preparación encéfalo aislado de gato provoca cambios electrográficos importantes que culminan con la aparición de crisis convulsivas generalizadas. El número de administraciones que se necesitaron para producir dicho efecto dependió de la dosis administrada, ya que con 2 mg/kg fueron más ensayos con respecto a 8 mg/kg. Las cantidades totales que se administraron para producir actividad convulsiva fueron de 52 a 88 mg/kg. Si la naloxona se administra (i.v.) en dosis únicas y en la misma preparación (experimento III) su efecto convulsivante se obtiene con cantidades de 30 mg/kg o más. Sin embargo, existen cambios electrográficos importantes desde cantidades de 5 mg/kg, con una duración que rebasa su tiempo de vida media. Los cambios farmacocinéticos que sufre la naloxona pueden explicar la mayor cantidad que se requiere para producir crisis convulsivas cuando se administra de manera repetida a diferencia de cuando se da en una sola administración.

En ambos tratamientos existen cambios electrográficos progresivos, sin embargo, la actividad convulsiva aparece

después de que la actividad paroxística se propaga a todas las estructuras, principalmente a la CM, por lo que se puede inferir que ésta última juega un papel importante en dicho proceso.

La naloxona es un antagonista narcótico cuya potencia está asociada a su alto índice de liposolubilidad (Kaufman, Semo y Koshi, 1975). Berkowitz (1976) describió que esta sustancia actúa rápidamente debido al corto tiempo en que tarda en entrar al cerebro, sin embargo, su salida del mismo también es rápida. Curtis y Lefer (1982) encontraron que la vida media plasmática de la naloxona en el gato es de 137 min. También encontraron que el tejido cerebral capta de esta sustancia, la proporción tejido/plasma más baja con relación a los demás órganos, pudiendo estar concentrada en núcleos nerviosos específicos. Los efectos observados durante la administración repetida de naloxona puede deberse a que el intervalo de administración con relación a su vida media, produce una acumulación plasmática progresiva, la que permite su acción continua a nivel del sistema nervioso. Se esperaba que, cuando se diera la naloxona en una sola administración, los cambios electrográficos producidos disminuyeran de acuerdo a su eliminación plasmática, sin embargo, se observó que a los 240 min. después de la dosis, la amplitud de los PEV es mayor con relación al control.

La interacción de los antagonistas de los opioides endógenos con sus receptores se han estudiado ampliamente, sin embargo los datos difieren dependiendo del tipo de preparación, ya que en experimentos in vivo la vida media de dichas sustancias es mayor que en in vitro (Perry y col., 1980). Lo anterior apoya los datos reportados en este trabajo los cuales indican que la vida media de la naloxona en gatos con la preaparación encéfalo aislado es mayor que la obtenida in vitro (137 min) en los mismos animales (Curtis y Lefter, 1982), ya que su efecto se observó hasta 240 min después de su administración. También se puede pensar que la naloxona produce cambios importantes y duraderos de la actividad nerviosa, cuya duración rebasa el tiempo de su vida media.

El papel de la naloxona como antagonista de los opioides endógenos se ha analizado en varias especies animales y en diferentes situaciones experimentales. Tortella, Moreton y Khazan (1978) encontraron que la administración de naloxona (2.5 a 40 μg i.c.v.) en la rata, impide la aparición de actividad lenta y de alto voltaje en el EEG, así como estu-
por conductual inducido por la D-encefalina (10 a 240 μg i.c.v.) o por morfina (2.5 a 40 μg i.c.v.). Meldrum y col. (1979) refirieron que la depresión respiratoria y actividad lenta en el EEG de la rata, producidas por el FK 33.824 (0.1

a 0.5 mg i.c.v.), son revertidos con la aplicación de 1 mg/kg (i.m.) de naloxona. Cowan, Tortella y Adler (1981) encontraron en la misma especie animal, que la administración de 0.1 mg/kg (s.c.) de naloxona revierte el aumento del umbral a la actividad convulsiva por electrochoques, producida por metquefamida o por FK-33.824.

Con base en los estudios anteriores, se puede apreciar que la naloxona puede prevenir o revertir el efecto de sustancias agonistas de los opioides endógenos, y que las cantidades necesarias para obtener dichos efectos son menores a la utilizadas en este estudio. Sin embargo, en cada uno de los trabajos descritos previamente se refiere que la aplicación de naloxona sola no produce cambios importantes.

En otros trabajos, se describe que, con la aplicación de naloxona es posible precipitar actividad convulsiva en algunos modelos de epilepsia experimental o natural. Schreiber (1979) encontró que esta sustancia (2 a 4 mg/kg i.p.) aumenta la severidad de la actividad convulsiva de ratones con crisis audiogénicas. Caldecott-Hazard y col. (1982) describieron que con dosis de 1 o 10 mg/kg (i.p.) impide el efecto anticonvulsivo de agonistas de los opioides endógenos, en la fase 5 del kindling amigdalino de la rata. Massoti y col. (1984) refirieron que la aplicación de 20 mg/kg de naloxona aumenta

la actividad convulsiva inducida por penicilina o estri-
cnicina en conejos. Puglisi-Allegra y col. (1985) describi-
ron que con cantidades de 0.5 a 5 mg/kg (i.p.) aumenta la
incidencia de actividad convulsiva por electrochoques.

Existen otros trabajos en los que se analiza el efecto
convulsivante de la naloxona en animales sin antecedentes de
epilepsia. Snyder, Dustman y Schlehuber (1981) describieron
que la naloxona produce actividad convulsiva en monos (macaca
arctoides) con dosis mayores de 32 mg/kg. Por su parte,
Calder y col. (1982) encontraron que la naloxona produce
crisis convulsivas en las ratas, con dosis de 100 mg/kg i.p.
o 100 µg en el septo lateral.

Con base en los trabajos previamente descritos, se puede
apreciar que las cantidades de naloxona que se utilizan para
prevenir o revertir el efecto de agonistas de los opioides
endógenos, así como las necesarias para aumentar la activi-
dad convulsiva en modelos experimentales o naturales de epi-
lepsia, no son mayores de 10 mg/kg (i.v. o i.p.), sin embar-
go, para producir crisis epilépticas en animales sin antece-
dentes de actividad convulsiva, es necesaria la aplicación
de dosis más altas. En el presente trabajo, las cantidades
totales de naloxona que se necesitaron para producir activi-
dad convulsiva, fueron mayores de 30 mg/kg, datos que están

de acuerdo con los referidos por Snyder y col., 1981 y Calder y col., 1982.

Las diferencias entre las cantidades de naloxona utilizadas para inducir actividad convulsiva en animales con y sin antecedentes de epilepsia, se puede explicar como sigue: Se describe que la aplicación crónica de morfina disminuye el umbral para la producción de actividad convulsiva inducida por choques eléctricos, por lo que se postula que ese tratamiento podría sensibilizar al sistema nervioso para presentar dicha actividad (Puglisi-Allegra, Cabib y Oliverio, 1985). Ahora bien, si existe liberación de opioides endógenos después de la aparición actividad convulsiva (Hong y col., 1979), es probable que en animales con epilepsia natural o experimental los péptidos liberados provoquen un efecto de sensibilización similar al obtenido con la administración crónica de morfina, debido a lo cual, las cantidades de naloxona necesarias para producir actividad convulsiva en estos animales son menores que en los que no tienen antecedentes de epilepsia. Lo anterior se puede explicar por cambios producidos en los receptores de opioides endógenos, ya que, la administración crónica de morfina o de choques electroconvulsivos modifica su número, pero no su afinidad (Holaday y col., 1984). Villarreal y col. (1985) postularon la existencia de diferentes sistemas de interacción droga-

receptor: el sistema "ocupacional" es el responsable de la neurodepresión producida por los opioides, mientras que la abstinencia es resultado de la activación del sistema de "proporción". Este último se hipertrofia cuando existe una exposición duradera a los opioides, resultando un incremento en la severidad y duración de la fenomenología característica de dicho síndrome. Los efectos en la epileptogénesis producidos por la exposición crónica de agonistas de los opioides pueden estar asociados a sistemas similares a los responsables del síndrome de abstinencia.

La discordancia de los datos acerca de los efectos de los opioides endógenos y naloxona en la epilepsia, puede deberse a varios factores. Uno de ellos es la especie animal utilizada así como la vía de administración, ya que los reportes que indican que los opioides endógenos son proconvulsivantes están basados en resultados obtenidos en ratas a las que les aplicaron dichos péptidos i.c.v. (Urca y col., 1977; Frenk y col., 1978 a y b; Henricksen y col., 1978; Tortella y col., 1978; Snead y Bearden, 1982; Snead y Stephen, 1984). Tales evidencias difieren de las que refieren un efecto inhibitorio de los opioides endógenos, las cuales se obtuvieron en otras especies animales, principalmente algunas que son modelos naturales de epilepsia, y en las que se utilizaron otras vías de administración de los opioides endógenos diferente

a la i.c.v. (Snyder y col., 1981; Schreiber, 1979; Meldrum y col., 1979 y 1981; Bajorek y Lomax, 1982; Lee y col., 1983 y 1984; Puglisi-Allegrá y col., 1984 y 1985, Massoti y col., 1984; Spillantini y Massoti, 1986).

Se sabe que la estimulación sensorial puede generar crisis convulsivas cuando se asocia a un cierto estado de excitabilidad neuronal (Naquet, Fergesten y Bert, 1960; Fisher-Williams y col., 1968; Hishikawa y col., 1976). También se describe que la naloxona aumenta la severidad de las crisis convulsivas inducidas por estimulación sensorial en animales con epilepsia fotosensible, audiogénica o por estimulación táctil, mientras que sustancias agonistas a los opioides endógenos la disminuye (Meldrum y col., 1979 y 1981; Schreiber, 1979; Lee y col., 1984). Así también, debido a que la estimulación sensorial juega un papel importante en algunos tipos de epilepsia, los cambios que presentan los PEV asociados a la actividad convulsiva han sido objeto de estudio. Rodin y col. (1966) refirieron que la actividad convulsiva provocada por megemida produce aumento de la amplitud y latencia de componentes tardíos (120 ms) de los PEV. Lucking, Creutzfeld Y Heinemann (1970) estudiaron los PEV de pacientes epilépticos y también encontraron que los componentes tardíos eran los más afectados. Se sabe que los componentes tempranos de los PEV reflejan la activación de

la vía visual específica, mientras que los componentes tardíos muestran las de vías inespecíficas y áreas de asociación cortical (Cigank, 1961). También se conoce que en estas últimas existe mayor concentración de receptores de opioides en comparación con las áreas corticales específicas (Lewis y col., 1981). Velasco y col. (1984) encontraron en humanos, que la aplicación de fentanil (2.5 a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) reduce significativamente la amplitud de los componentes tardíos (P 150) de potenciales evocados auditivos y somatosensoriales, mientras que la naloxona (1.3 a 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) los aumenta; no encontraron cambios importantes en componentes tempranos.

En el experimento II, se encontró que la actividad convulsiva inducida por administración repetida de naloxona se facilita con estimulación sensorial (E.S.). Esto se puede explicar debido a los cambios de excitabilidad nerviosa que produce esta sustancia, por lo que la estimulación sensorial durante el efecto de la misma facilita la aparición de actividad convulsiva, resultando un buen modelo de precipitación sensorial.

La administración de dosis únicas de naloxona, tanto epileptógenas como no epileptógenas, produce incremento progresivo de la amplitud de los componentes de los PEV de la

CV, efecto cuya intensidad y duración son mayores con las dosis convulsivantes. Así también, el hecho de que estas últimas provoquen cambios importantes en los componentes tardíos de los PEV de la CV, los que se previenen con la aplicación de fentanil, hace suponer que existe una estrecha relación entre la acción moduladora de los opioides endógenos y las funciones de las áreas de asociación cortical, y con menor importancia con las de vías sensoriales específicas.

Las respuestas a la estimulación sensorial de estructuras que no forman parte de la vía visual específica (CM, AmgD y AmgI), aumentan durante el efecto de la naloxona, con dosis no convulsivantes y después de la actividad convulsiva inducida por dosis convulsivantes, debido probablemente a que los opioides endógenos intervienen en la modulación de las respuestas de esas estructuras a dicha estimulación. Por medio del espectro de potencia fue posible analizar los cambios de la actividad eléctrica y de las respuestas a la estimulación sensorial de la corteza motora y amígdalas cerebrales durante el efecto de la naloxona así como la precipitación sensorial que con su administración repetida se produce. Este análisis resultó adecuado ya que se valoraron cambios progresivos que no se apreciaron en el EEG.

Llama la atención la ausencia de modificaciones importantes en los registros de presión arterial y frecuencia cardíaca durante el efecto de la naloxona, aún con dosis altas. Sin embargo, estos resultados se pueden explicar en parte, por que los animales se mantuvieron bajo condiciones estables de respiración, hidratación y temperatura.

Con la administración repetida i.p. de naloxona en animales íntegros, se pueden producir cambios conductuales que van desde actitud de sueño (somnolencia) hasta CCG clónico-tónicas. Con estos resultados se descarta la existencia de cambios de la excitabilidad neuronal inducidos por la sección medular en la preparación encéfalo aislado, así mismo apoya el efecto epileptógeno de la naloxona por vía i.v.

Es importante hacer notar que algunas de las manifestaciones encontradas en los animales íntegros también se observan durante el kindling eléctrico amigdalino, como movimientos repetitivos de cabeza y contracción de la musculatura facial (Wada y Sato, 1974). Esto sugiere que los opioides endógenos localizados en estructuras límbicas tienen efecto inhibitorio en el proceso de epileptogénesis, como lo han demostrado varios autores (Shavit y col., 1984; Frenk y Stein, 1984), el cual es antagonizado por la naloxona

o modificado durante el kindling de estas estructuras (Vindrola y col., 1981a, b, 1983).

Las manifestaciones conductuales provocadas por la administración i.p. repetida de 8 mg/kg de naloxona en los animales íntegros, fueron de mayor intensidad y frecuencia cuando se aplicó estimulación sensorial, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la cantidad total de naloxona necesaria para producir CCG cuando se da sola o con estimulación sensorial. Tampoco existieron diferencias importantes cuando se dió i.v. la misma dosis sola y con ELI en el encéfalo aislado. Este hecho puede deberse a que, con la administración de esta dosis i.p. o i.v. cada 15 min, en un tiempo corto se alcanzaron cantidades plasmáticas con las que rápidamente se induce actividad convulsiva, debido a lo cual no fué posible valorar el efecto precipitante de la estimulación sensorial.

Las crisis convulsivas clónico-tónicas inducidas por la administración repetida de naloxona en animales íntegros, se caracterizan por no presentar relajación muscular en la fase postictal, lo que concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (Tortella y Cowan, 1982a, b; Vindrola y col., 1981; Frenk y Stein, 1984), y en los que se fundamentan para establecer que los opioides endógenos se liberan con la

producción de actividad convulsiva y que son los responsables de la depresión postictal, cuya aparición se impide con la administración de naloxona.

Existen evidencias de que la naloxona tiene efectos tanto excitatorios como inhibitorios. La administración de dosis bajas de esta sustancia (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s.c. o 1 ng intracisternal) causa analgesia en ratones, mientras que dosis mayores (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s.c. o 100 ng intracisternal) induce hiperalgesia (Ueda y col., 1986). Agmo y Tarasco (1985) postularon que con dosis bajas de naloxona se activan células GABAérgicas. También se refiere que en cantidades altas (mayores de 90 mg/kg o 0.1 mM por iontoforesis) ejerce un efecto antagónico competitivo sobre el GABA (Dingledine, Iversen y Breuker, 1978; Gruol y col., 1980). Cupello e Hydén (1981) refirieron que la met-enkefalina disminuye el transporte del GABA en la membrana de las células de Deiters, con lo que se prolonga el efecto inhibitorio de esta última, mientras que la naloxona lo revierte.

En este trabajo se encontraron algunos datos indicadores de depresión de la actividad nerviosa durante el efecto de la naloxona. Con administraciones repetidas (experimento II), inicialmente se observó actividad lenta cortical. Con dosis únicas de naloxona (experimento III) inicialmente hay

disminución de la amplitud de los PEV. En los primeros ensayos de administración i.p. repetida (experimento IV) todos los animales íntegros manifestaron conducta de sueño (somnolencia). Estos hallazgos se pueden deber a que la naloxona pudiera estar activando sistema inhibitorios, al deprimir el efecto de los opioides endógenos, y provocar depresión neuronal, mientras que su efecto excitador y convulsivo se explica por su efecto inhibitorio en la acción de los opioides endógenos e indirectamente por antagonismo competitivo en la acción del GABA o por antagonismo competitivo directo en esta última con cantidades altas. Pasternak y Snyder (1975) encontraron que la naloxona se une a receptores de alta afinidad con un K_d de 0.4 nM y de baja afinidad con un K_d de 30 nM. Estos autores describieron que su acción en los receptores de alta y baja afinidad puede reflejar su interacción con estados del receptor antagonista y agonista respectivamente. El efecto depresor de la naloxona se puede explicar por su acción en los estados agonistas mientras que su efecto excitador en los estados antagonistas de los receptores de los opioides endógenos.

La naloxona es una sustancia que no existe en el cuerpo, la cual, al ser introducida en el mismo, puede estar actuando en receptores para los cuales no hay un ligando endógeno, o que dicho ligando existe pero no en la vecindad.

Por lo anterior la naloxona puede estar produciendo un efecto que fisiológicamente no tiene contraparte. Por otro lado, existen diferencias importantes de las respuestas a los péptidos opioides entre las especies animales, las que pueden deberse a diferencia sutiles en la estructura química de sus receptores, por lo que una sustancia que es antiepileptógena en una especie, puede producir actividad convulsiva en otra. Sin embargo, en los experimentos realizados para este trabajo, se encontraron datos que hacen pensar que los efectos producidos por la naloxona pueden deberse a antagonismo de la acción de los opioides endógenos. En el experimento I, 90 min después de la última administración de naloxona, las crisis convulsivas inducidas por la estimulación eléctrica subumbral desaparecieron y el desarrollo del kindling amigdalino fué similar al del grupo en el que no se dió naloxona. En el experimento III, la aplicación de fentanil previa a la de una dosis convulsivante de naloxona, produjo la aparición de paroxismos y espigas de alto voltaje, pero no se observaron crisis convulsivas. Por último, en el experimento IV, la aplicación repetida de naloxona en animales íntegros provocó crisis convulsivas con ausencia de depresión postictal conductual. Estos resultados, muestran un probable efecto inhibitorio de los opioides endógenos en la actividad convulsiva, sin embargo, se necesitan más evidencias para apoyar dichos datos.

Los cambios iónicos juegan un papel importante en la actividad neuronal así como en los mecanismos productores de la epilepsia. Se postula que las corrientes de potasio regulan la frecuencia de descargas interictales y que el incremento de este ión en el espacio extracelular induce actividad epiléptica (Rutecki, Lebeda y Johnston, 1985). Los niveles de calcio disminuyen durante la actividad convulsiva, mientras que el sodio y el cloro muestran cambios variables, dependiendo del tipo de crisis (Somjen, 1984).

Se sabe que los péptidos opioides inhiben el disparo neuronal en varias regiones del sistema nervioso (Barker, Smith y Neale, 1978), lo cual puede deberse a que estas sustancias pueden prolongar la fase de hiperpolarización, debido a cambios en los niveles de iones extracelulares. Tokimasa, Morita y North (1981) refirieron que el efecto hiperpolarizante de los opioides endógenos aumenta cuando se impide la entrada de calcio a las células. North y Williams (1985) encontraron que sustancias agonistas a estos péptidos producen aumento de la conductancia al potasio en el locus ceruleus de la rata. Michaelson, McDowall y Sarne (1984) describieron que los opioides endógenos bloquean los canales de calcio presinápticos. Por su parte, Cherubini y North (1985) refirieron que la activación de receptores a opioides de tipo mu y kappa aumenta la conductancia del potasio y

disminuye la del calcio. La depresión inducida por los opioides endógenos, con el consiguiente aumento de la conductancia al potasio por la activación de receptores a opioides se explica por decremento del ANPc intracelular, ya que sustancias agonistas a este último impiden dicho efecto (Andrade y Aghajamain, 1985).

El efecto inhibitorio de los opioides endógenos puede deberse también a los cambios que inducen en algunos neurotransmisores. La aplicación de sustancias agonistas a estas sustancias (afines a los receptores de tipo kappa y mu), disminuyen la liberación de acetilcolina y noradrenalina en el hipocampo de conejo (Jackish y col., 1986a, b). Así también, la activación de receptores mu en el plexo miéntérico del íleo de cobayo disminuye la liberación de acetilcolina (Cherubini y col., 1985), datos que concuerdan con los encontrados por Michaleson y col. (1984). La liberación de dopamina en el lóbulo neural está bajo el efecto inhibitorio de los opioides endógenos, ya que la aplicación de naloxona la aumenta (Racké y col., 1986).

El efecto facilitador de la naloxona en el desarrollo del kindling amigdalino, puede deberse también al papel de otros neurotransmisores. Se sabe que durante el kindling hay aumento de la liberación de GABA (Leibowitz, Pedley y Cutler,

1978) y que el aumento del efecto de este último por medio de la aplicación de benzodiazepinas, suprime la actividad convulsiva en el kindling (Babington y Wedeking, 1973) por lo que de alguna manera, el efecto facilitador de la naloxona en el kindling puede deberse en parte a inhibición de la acción del GABA, principalmente con dosis altas.

Se postula que la naloxona actúa modificando la acción de otras sustancias. Jhamadas y Sutak (1978) refirieron que esta sustancia puede facilitar la liberación de acetilcolina inducida por estimulación eléctrica. Sasaki y col. (1984) encontraron que el efecto constrictor de las catecolaminas aumenta con dosis bajas de naloxona. Quok y Lucas (1985) describieron una interacción entre esta sustancia y la l-dopa. Estos datos hacen pensar que el efecto epileptógeno de la naloxona, pudiera deberse también a cambios en la acción de otras sustancias diferentes a los opioides endógenos.

APENDICE

Preparación Biológica

Se utilizaron gatos de 2 a 3 kg de peso, tanto hembras como machos, obtenidos del bioterio del Instituto Mexicano de Psiquiatría. Se anestesiaron con éter inhalado; se canuló la arteria femoral para registrar la presión arterial; se instaló un catéter en la vena femoral para administrar sustancias (solución salina, glucosada y naloxona diluida). Posteriormente se realizó la preparación de encéfalo aislado (Bremer, 1935) que consiste en trepanar la segunda vértebra cervical y seccionar la médula espinal a ese nivel. En esta preparación el animal se mantiene con respiración artificial por medio de una traqueostomía y se inmoviliza con galamina (Flaxedil i.v.) con una dosis inicial de 10 mg/kg y con dosis horarias posteriores de 1 mg/kg.

Los animales se fijaron en un cabezal estereotáxico (Horsley-Clarke) con la aplicación previa de anestesia en los conductos auditivos externos y en las ramas maxilar y mandibular del trigémino. Por medio de una incisión amplia de la piel, se expuso la superficie del cráneo. Se desinsertaron los músculos temporales para obtener una área mayor

de exposición. A través de trépanos se implantaron electrodos. Posteriormente el cráneo se cubrió con lujol. La temperatura rectal de los animales se mantuvo entre 37 y 38 C por medio de calor radiante. Para mantener la preparación bien hidratada, cada hora se administró (i.v.) 1 ml de solución salina y glucosada al 5%. El diámetro pupilar y la frecuencia cardíaca fueron parámetros para evaluar el estado general de la preparación.

Estimulación Eléctrica para producir Kindling Amigdalino

La estimulación eléctrica para desarrollar kindling amigdalino se aplicó por medio de un electrodo bipolar de acero inoxidable con resistencia de 70 a 90 kohms, el cual se implantó en el núcleo central del complejo amigdalino del lóbulo temporal izquierdo, con base en las coordenadas indicadas en el atlas estereotáxico de Reinoso-Suárez (1961): 11 anterior, 9.2 lateralidad y 5.3 profundidad.

El umbral de producción de postdescarga amigdalina se determinó aplicando, por medio de un estimulador Grass S 88, trenes de estimulación de 2 s, con pulsos cuadrados de 1 ms de duración, a 60 Hz, con una intensidad inicial de 100 μ A. La estimulación se repitió cada 2 min, aumentando la intensidad 50 μ A cada vez, hasta producir una postdescarga amigda-

lina de 3 s de duración. Posteriormente se dió un estímulo eléctrico igual, cada 15 min.

En los animales en los que no se provocó kindling amigdalino, se implantó un electrodo con las características ya descritas, pero sin aplicar la estimulación eléctrica.

Registro de la Actividad Eléctrica Cerebral

En este estudio se registró el EEG de las siguientes estructuras: corteza motora (CM), corteza visual (CV), amígdala derecha (AmgD) y amígdala izquierda (AmgI).

Para el registro del EEG de las amígdalas se utilizaron electrodos bipolares con las mismas características descritas para el electrodo de estimulación. Se implantaron estereotáxicamente en el núcleo central de la AmgD (11 anterior, 9.2 lateralidad y 5.3 profundidad) y en el núcleo basal de la AmgI (10 anterior, 9.2 lateralidad y 4 profundidad) (Reynoso-Suárez, 1961).

Para el registro del EEG de la CM y CV se utilizaron electrodos de clavo de acero inoxidable, los que se implantaron en el espacio epidural de la región respectiva.

Las señales eléctricas obtenidas de los electrodos se amplificaron y se registraron en un poligrafo Grass 78 B, las cuales se filtraron con un rango de 3 a 60 Hz.

Registro de otras Variables Fisiológicas

El catéter colocado en la arteria femoral se conectó a un transductor de presiones. La señal dada por la tensión arterial se amplificó y se registró en el poligrafo Gras 78 B.

El registro del ECG se obtuvo a través de un par de electrodos situados en los miembros anteriores. La señal se registró en el poligrafo por medio de un tacógrafo electrocardiográfico.

Durante todo el tiempo de experimentación se hizo registro continuo de la temperatura rectal y del diametro pupilar.

Estimulación Luminosa en la Preparación Encéfalo Aislado

Por medio de un fotoestimulador Grass SP 22, se aplicaron ELI a los animales con la preparación de encéfalo aislado (experimento III), con pulsos luminosos de 10 us de duración, a 1, 3 y 10 Hz, con intensidad máxima, durante

1 min. para cada frecuencia. La lámpara de estimulación se situó a 20 cms de los ojos del animal.

Análisis de los Potenciales Evocados Visuales (PEV)

Las respuestas eléctricas a la estimulación luminosa (ELI) a 1 Hz de las estructuras implantadas (CM, CV, AmgD y AmgI) se grabaron en una grabadora SP 22. Posteriormente se hicieron promedios de los PEV de cada estructura ($X = 64$) en una promediadora Nicolet 11700, con un tiempo de análisis de 250 ms y se graficaron en papel con una graficadora X-Y. Posteriormente se cuantificaron las amplitudes pico a pico de los componentes N1-P1, P1-N2 y N2-P2 así como sus tiempos de latencia. Los valores obtenidos se normalizaron con respecto a los controles.

Estimulación sensorial en los animales en libre movimiento

La estimulación sensorial que se aplicó a los animales en libre movimiento (experimento IV) consistió en estimulación luminosa y acústica. Para la primera se utilizó un fotoestimulador Grass SP 22, con el que se dieron pulsos luminosos de 10 us de duración, con intensidad de 1,500,000 bujías, a frecuencias de 1, 3, 10 y 15 Hz, durante 1 min

para cada frecuencia. Simultáneamente, con un aditamento especial de una computadora Med 80, se aplicó estimulación acústica con pulsos de 90 ms de duración, a 4,000 Hz, con intensidad de 95 dB en dos canales, a las mismas frecuencias utilizadas para la estimulación luminosa.

Análisis de Espectro de Potencia del EEG

El análisis de espectro de potencia del EEG se realizó en una computadora Med 80 de manera continua durante todo el tiempo de experimentación (8 hrs).

Se tomaron periodos de 6 s del EEG de cada estructura registrada, se digitalizaron en 320 puntos por segundo y se hicieron promedios de 10 periodos equivalentes a 60 s del EEG. A estos últimos se les aplicó el análisis correspondiente para obtener su espectro de potencia. El resultado se graficó en una graficadora X-Y, en barridos continuos, con un rango de frecuencia de 0 a 20 Hz en las abscisa e indicando la densidad de potencia para cada Hz en la ordenada.

Determinación de la Cantidad de Naloxona en Plasma

Cuando una droga se introduce al organismo, su concentración en la sangre disminuye progresivamente, dependiendo de

la cantidad aplicada, de su vida media y su eliminación. Si se administra repetidamente existe un grado de acumulación en el organismo que está en relación directa con el intervalo de administración, e inversa con su vida media.

Para determinar de manera teórica la cantidad de naloxona acumulada en plasma, inducida por su administración i.v. repetida, se utilizó la siguiente fórmula (Gladke y von Hatlingberg, 1979):

$$y = y_0 2^{-t/\xi}$$

y = cantidad de naloxona en un momento específico (15 min).

y₀ = cantidad de naloxona en plasma inmediatamente después de se aplicación (2, 4 u 8 mg/kg).

-ξ = t / t 50%.

t = intervalo de tiempo entre cada administración (15 min).

t 50% = tiempo de vida media (137 min) (Curtis y Lefer, 1982).

Histología

Los animales utilizados con la preparación de encéfalo aislado en los experimentos I, II y III se sacrificaron con pentobarbital i.v. (Anestesal). Se extrajo el cerebro previamente fijado con formol al 20 %. Los sitios de implantación de los electrodos se identificaron por medio de la técnica de procedimiento rápido (Guzmán-Flores y col., 1958).

BIBLIOGRAFIA

Agmo, A. and Tarasco, C. (1985): Interactions between naloxone and GABA in the control of the locomotor activity in the rat. J. Neural. Transmission., 61: 137-49.

Alonso de Florida, F. and Delgado, M.R. (1958): Lasting behavioral and EEG changes in cats induced by prolonged stimulation of amygdala. Amer. J. Physiol., 193: 223-9.

Andrade, R. and Aghajanian, G.K. (1985): Opiate and alfa-2 adrenoceptor induced hyperpolarizations of locus ceruleus neurons in brain slices: reversal by cyclic adenosine 3':5'-monophosphate analogues. J. Neurosci., 5: 2359-64.

Atewh, S. and Kuhar, M. (1977): Autorradiographic localization of opiate receptors in rat brain. II. The brain stem. Brain Res., 129: 1-12.

Babington, R.G. and Wedeking, P.W. (1973): The pharmacology of seizures induced by sensitization with low intensity brain stimulation. Pharmacol. Biochem. Behav., 1: 461-7.

Bajorek, J.G. and Lomax, P. (1982): Modulation of spontaneous seizures in the mongolian gerbil: effects of beta endorphin. Peptides, 3: 83-6.

Barker, J.L., Smith, T.G. and Neale, J.H. (1978): Multiple membrane actions of enkephalin revealed using cultured spinal neurons. Brain Res., 154: 153-8.

Berkowitz, B. A. (1976): The relationship of pharmacokinetics to pharmacological activity: morphine, methadone and naloxone. Clin. Pharmacokinetics, 1: 219-30.

Bliss, T. and Garder-Medwin, A. (1973): Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbits following stimulation of the perforant path. J. Physiol., 232: 357- 74.

Bonhaus, D.W., Rigsbee, L.C. and McNamara, J.O. (1987): Intranasal dynorphin-1-13 suppresses kindled seizures by a naloxone-insensitive mechanism. Brain Res., 405: 358-63.

Bremer, F. (1935): Cerveau isolé et physiologie de sommeil. C. R. Soc. Biol. (Paris), 118: 1235- 40.

- Buchsbaum, M., Davis, G., Coppola, R. and Dieter, N. (1981): Opiate pharmacology and individual differences. II. Somatosensory evoked potentials. Pain, 10: 367-77.
- Buscher, H., Hill, R., Romer, D., Cardinaux, F., Closse, A., Hauser, D. and Pless, J. (1976): Evidence for analgesic activity of enkephalin in the mouse. Nature, 261: 423-5.
- Cain, D.P. (1979): Kindling in sensory systems: Thalamus. Exp. Neurol., 66: 319-29.
- Cain, D. P. (1982): Kindling in sensory systems: Neocortex. Exp. Neurol., 76: 276-83.
- Cain, D.P. and Corcoran, M.E. (1984): Intracerebral beta-endorphin, met-enkephalin and morphine: kindling of seizures and handling-induced potentiation of epileptiform effects. Life Sci., 34: 2535-42.
- Cain, D.P. and Corcoran, M.E. (1985): Epileptiform effects of met-enkephalin, beta-endorphin and morphine: kindling of generalized seizures and potentiation of epileptiform effects by handling. Brain Res., 338: 327-36.
- Caldecott-Hazard, S., Shavit, Y., Ackerman, R.F., Engel, J., Frederickson, R.C.A. and Liebeskind, J.C. (1982): Behavioral and electrographic effects of opioids on kindled seizures in rats. Brain Res., 251: 327-333.
- Calder, L.D., Snyder, E.W. and Dustman, R.E. (1982): Naloxone-induced epileptogenesis has brain-site specificity in rats. Neuropharmacol., 21: 1001-4.
- Cherubini, E. and North, R.A. (1985): Mu and Kappa opioids inhibit transmitter release by different mechanism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 1860-3.
- Ciganek, L. (1961): The EEG response (evoked potential) to light stimulus in man. EEG. Clin. Neurophysiol., 13: 165-72.
- Corcoran, M.E. and Wada, J. (1979): Naloxone and the kindling seizures. Life Sci., 24: 791-796.
- Cottrell, G.A., Nyakas, C. and Bohus, B. (1984): The behavioural depression of hippocampal kindled rats is attenuated by subcutaneous and intracerebroventricular naltrexone. Prog. Neuro-Psychopharmacol. and Biol. Psychiat., 8: 673-6.
- Cowan, A., Tortella, F.C. and Adler, M. (1981): A comparison of the anticonvulsant effects of two systemically active enkephalin analogues in rats. Eur. J. Pharm., 71: 117-21.

Cupello, A. and Hydén, H. (1981): On the presence of met5-enkephalin receptors on the plasma membranes of Deiters' neurons and their modulation of GABA transport. J. Neurosci. Res., 6: 579-83.

Curtis, M.T. and Lefer, A.M. (1982): Tissue uptake of 3H-Naloxone in control and in hemorrhagic shock cats. Arch. Int. Pharmacodyn., 255: 48-58.

Dingledine, R. (1981): Possible mechanisms of enkephalin action on hippocampal CA1 pyramidal neurons. J. Neurosci., 1: 1022-35.

Dingledine, R., Iversen, L. and Brenker, E. (1978): Naloxone as a GABA antagonist: evidence from iontophoretic, receptor binding and convulsant studies. Eur. J. Pharmacol., 47: 19-27.

Douglas, R. and Goddard, G. (1975): Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. Brain Res., 86: 205-15.

Dow, R.S., Fernández-Guardiola, A. and Manni, E. (1962): The production of cobalt experimental epilepsy in the rat. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 14: 399-407.

Dowman, R. and Rosenfeld, P. (1985): Effects of naloxone and repeated stimulus presentation on cortical somatosensory evoked potential (SEP) amplitude in the rat. Exp. Neurol., 89: 9-23.

Fernández-Guardiola, A. (1986): Modelos experimentales de epilepsia. Psiquiatría, 2: 59-68.

Fernández-Guardiola, A., Calvo, J. M., Barragán, L. A., Alvarado, R. and Condés-Lara, M. (1982): Kindling in the spinal cord: differential effects on mono- and polysynaptic reflexes and its modifications by atropine and naloxone. pp. 257-63. In: A. Buser, W. A. Cobb and T. Okuma (Eds.), Kyoto Symposia (EEG) Suppl. no. 36. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.

Fernández-Guardiola, A., Calvo, J. M. and Pellicer, F. (1986): Long-term synaptic potentiation and burst response increment could be due to enkephalinergic disinhibition. Experiments on the spinal cord and amygdaloid kindling. pp. 157-72. In: J. A. Wada (Eds.), Kindling 3. Raven Press, New York.

Fernández-Guardiola, A., Condés-Lara, M. and Calvo, J. M. (1981a): Synaptic changes induced by optic chiasm low intensity repetitive electrical stimulation. (The kindling effect). pp. 331-4. In: Ricardo Tapia and Carl Gotman (Eds.), Regulatory Mechanism of Synaptic Transmission. Plenum Publishing Corporation, New York.

Fernández-Guardiola, A., Jurado, J.L. and Calvo, J.M. (1981b): Repetitive low-intensity electrical stimulation of cat's nonlimbic brain structures: dorsal raphe nucleus kindling. pp. 123-35. In: J.A. Wada (Ed.), Kindling 2. Raven Press, New York.

Fernández-Guardiola, A., Roldán, E. y Guzmán, C. (1957): Activación por metrazol de los potenciales evocados en las vías sensoriales específicas e inespecíficas. Bol. Inst. Estud. Méd. Biol. Méx., 15: 37-47.

Fisher-Williams, M., Poncet, M., Riche, D. and Naquet, R. (1968): Light-induced epilepsy in the baboon, Papio-papio: cortical and depth recordings. EEG. Clin. Neurophysiol., 25: 557-69.

Frenk, H., Mc Carty, B. and Liebeskind, J.C. (1978a): The epileptic properties of enkephalin. Science, 200: 355-7.

Frenk, H., Urea, G. and Liebeskind, J. (1978b): Epileptic properties of leucine- and methionine-enkephalin: comparison with morphine and reversibility by naloxone. Brain Res., 147: 327-37.

Frenk, H. and Stein, B. (1984): Endogenous opioids mediate ECS-induced catalepsy at supraspinal levels. Brain Res., 303: 109-12.

Frenk, H., Watkins, L.R. and Mayer, (1984b): Differential behavioral effects induced by intrathecal microinjection of opiates: comparison of convulsive and cataleptic effects produced by morphine, metadone, and D-Ala²-Methionine-enkephalinamide. Brain Res., 299: 31-42.

Gaito, J. (1980): Interference effects within the kindling paradigm. Physiol. Psychol., 8: 120-5.

Gladke, E. and von Hatlinberg, H. M. (1979): Pharmacokinetics and treatment. pp. 62-7. In: E. Gladke and H. M. von Hatlinberg (Eds.), Pharmacokinetics. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York.

Gastaut, H., Naquet, R., Meyer, A., Cavanagh, J.B. and Beck, E. (1959): Experimental psychomotor epilepsy in the cat. J. Neuropath. Exper. Neurol., 18: 270-293.

Goddard, G. V., Mc Intyre, C. D. and Leech, C. K. (1969): A permanent change in brain function resulting from dialy electrical stimulation. Exp. Neurol., 25: 269-330.

Gruol, D. L., Barker, J. L. and Smith, T. G. (1980): Naloxone antagonism of GABA-evoked membrane polarizations in cultured mouse spinal cord neurons. Brain Res., 198: 323-32.

Guzmán-Flores, C., Alcaráz, M. and Fernández-Guardiola, A. (1953): Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. Bol. Inst. Estud. Med. Biol. (Méx.), 16: 29-31.

Hardy, Ch., Pankepp, J., Rossi, J. and Solovik, A.J. (1980): Naloxone facilitates amygdaloid kindling in rats. Brain Res., 194: 293-7.

Harris, J. A. (1943): Habitatory response decrement in the intact organism. Psychological Bull., 40: 385-22.

Henriksen, S.J., Bloom, F.E., Mc Coy, F., Ling, N. and Guillemin, R. (1978): Beta-endorphin induces nonconvulsive limbic seizures. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 5221-5.

Hill, R., Pepper, C. and Mitchell, J. (1976): Depression of nociceptive and other neurons in the brain by iontophoretically applied met-enkephalin. Nature, 262: 604-6.

Hishikawa, Y., Yamamoto, J., Furuya, E., Yamada, Y., Miyasaki, K. and Kaneko, Z. (1967): Photosensitive epilepsy: relationships between the visual evoked responses and the epileptiform discharges induced by intermittent photic stimulation. EEG. Clin. Neurophysiol., 23: 320-34.

Hong, J.S., Gillen, J.C., Yang, H.Y.F. and Costa, E. (1979): Repeated electroconvulsive shocks and the brain content of endorphins. Brain Res., 177: 273-8.

Holaday, J.W. and Tortella, F.C. (1984): Multiple opioid receptors: possible physiological function of mu and delta binding site in vivo. In: Muller E.E. and Genazzi A.R. (eds). Central and Peripheral Endorphins. Basic and Clinical Aspects. Raven Press, New York.

Hughes, J. (1975): Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine. Brain Res., 88: 295-308.

Iadarola, M.J., Shin, C., Mc Namara, J.O. and Yang, H.Y.T. (1986): Changes in dynorphin, enkephalin and cholecystokinin content of hippocampus and substantia nigra after amygdala kindling. Brain Res., 365: 185-91.

Ito, T., Hori, M., Yoshida, K. and Shimizu, M. (1977): Effect of anticonvulsants on seizures developing in the course of daily administration of pentetrazol in rats. Eur. J. Pharmacol., 45: 165.

Jackisch, R., Geppert, M., Brenner, A.S. and Illes, P. (1986a): Presynaptic opioid receptors modulating acetylcholine release in the hippocampus of the rabbit. Arch. Pharmacol., 332: 156-62.

Jackisch, R., Geppert, M. and Illes, P. (1986b): Characterization of opioid receptors modulating noradrenaline release in the hippocampus of the rabbit. J. Neurochem., 46: 1802-10.

Jhamadas, K and Sutak, M. (1976): Morphine-naloxone interaction in the central cholinergic system: the influence of subcortical lesioning and electrical stimulation. Br. J. Pharmacol., 58: 101-107.

Kaufman, J. J., Semo, N.M. and Koshi, W.S. (1975): Microelectrometric titration measurement of the pKa's and partition and drug distribution coefficients of narcotics and narcotic antagonists and their pH and temperature dependence. J. Med. Chem., 18: 647-655.

Kitchen, I. (1985): Endogenous opioid nomenclature: light at the end of the tunnel. Gen. Pharmacol., 16: 79-84.

Kuhar, M., Pert, C. and Snyder, S. (1973): Regional distribution of opiate receptors binding in monkey and human brain. Nature, 245: 447-50.

Kuhar, M. (1980): Opioid peptides and receptors in the rat brain stem. In: J. A. Hobson and M. A. Brazier (Eds.), The Reticular Formation Revisited: Specific Function For nonespecific system. Raven Press, New York.

Lee, R.J., Bajorek, J.G. and Lomax, P. (1984): Similar anticonvulsant, but unique, behavioral effects of opioid agonist in the seizure-sensitive mongolian gerbil. Neuropharmacology, 23: 517-24.

Leibowitz, N.R., Pedley, T.A. and Cutler, R.W.P. (1978): Release of gamma-aminobutyric acid from hippocampal slice of

the rat following generalized seizures induced by daily electrical stimulation of entorhinal cortex. Brain Res., 138: 369-73.

Lewenstein, M.J. and Fishman, J. (1966): Morphine derivatives. U.S. Patent, 3,254,088.

Lewis, M. E., Mishkin, M., Bragin, E., Brown, R. W., Pert, C. B. and Pert, A. (1981): Opiate receptor gradients in monkey cerebral cortex: correspondence with sensory processing hierarchies. Science, 211: 1166-9.

Lloyd, D.P.C. (1949): Post-tetanic potentiation of response in monosynaptic pathways of the spinal cord. J. Gen. Physiol., 33: 147-70.

Lucking, C.H., Creutzfeld, O.D. and Heinemann, U. (1970): Visual evoked potentials of patients with epilepsy and of a control group. EEG. Clin. Neurophysiol., 29: 557-66.

Malin, D., Leavel, J., Freeman, K., Kinzler, W. and Reagan, M. (1985): Continuous infusion of naloxone: effects on behavior and oxygen consumption. Pharmacol. Biochem. Behav., 22: 791-5.

Massotti, M., Sagratella, S., Argiolas, I. and Mele, L. (1984): Influence of morphine and cyclazocine on the cortical epileptic foci in rabbits. Brain Res., 310: 201-12.

Meldrum, B. S., Menini, Ch., Stutzmann, J. M. and Naquet, R. (1979): Effects of opiate-like peptides, morphine and naloxone in the photosensitive baboon, Papio-papio. Brain Res., 170: 333-48.

Meldrum, B.S., Menini, C., Naquet, R., Riche, D. and Silva-Comte, C. (1981): Absence of seizure activity following focal cerebral injection of enkephalins in a primate. Regul. Peptides, 2: 85-90.

Michaelson, D. M., Mc Dowall, G. and Sarne, Y. (1984): Opiates inhibit acetylcholine release from torpedo nerve terminals by blocking Ca^{++} influx. J. Neurochem., 43: 614-8.

Naquet, R., Fergesten, L. and Bert, J. (1960): Seizures discharges localized to the posterior cerebral regions in man provoked by intermittent photic stimulation. EEG. Clin. Neurophysiol., 12: 305-16.

Naranjo, J.R., Iadarola, M.J. and Costa, E. (1980): Changes in the dynamic state of brain proenkephalin-derived peptides during amygdaloid kindling. J. Neurosci. Res., 10: 75-87.

North, R.A. and Williams, J.T. (1985): On the potassium conductance increased by opioids in rat locus coeruleus neurons. J. Physiol., 364: 266-80.

Pasternak, G.W. and Snyder, S.H. (1975): Identification of novel high affinity opiate receptor binding in rat brain. Nature, 253: 563-565.

Pellicer, F., Calvo, J.M., Alvarado, R. y Fernández-Guardiola, A. (1983): Habitación y deshabitación de las respuestas reflejas espinales provocadas por estimulación eléctrica del N. Sural en el gato: Acción de la naloxona en estos procesos. XXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Colima, Col.

Perry, D.C., Mullis, K.B., Oie, S. and Sadéc, W. (1980): Opiate antagonist receptor binding in vivo: evidence for a new receptor binding model. Brain Res., 199: 49-61.

Pinel, J. (1981): Kindling-induced experimental epilepsy in rats: Cortical stimulation. Exp. Neurol., 72: 559-69.

Post, R.M., Putnam, F., Contel, N.R. and Goldman, B. (1984): Electroconvulsive seizures inhibit amygdala kindling: implications for mechanisms of action in affective illness. Epilepsia, 25: 234-9.

Prosdoncini, M., Finesso, M. and Gorio, A. (1986): Enkephalin modulation of neural transmission in the cat stellate ganglion: pharmacological actions of exogenous opiates. J. Auton. Nerv. Syst., 17: 217-30.

Puglisi-Allegra, S., Castellano, C., Csanyl, V., Doka, A. and Oliverio, A. (1984): Opioid antagonism of electroshock induced seizures. Pharmacol. Biochem. Behav., 20: 767-9.

Puglisi-Allegra, S., Cabib, S. and Oliverio, A. (1985): Pharmacological evidence for a protective role of the endogenous opioid system on electroshock-induced seizures in the mouse. Neurosci. Lett., 62: 241-7.

Quok, R. and Lucas, T. (1985): A selective potentiation by naloxone of L-dopa but not atropine suppression of oxotremorine-induced tremor in mice. J. Pharm. Pharmacol., 37: 673-4.

Racine, R. (1972a): Modification of seizure activity by electrical stimulation. II Motor seizure. EEG. Clin. Neurophysiol., 32: 281-94.

- Racine, R., Okujava, V. and Chipashvili, S. (1972b): Modification of seizure activity by electrical stimulation: III Mechanism. EEG. Clin. Neurophysiol., 32: 295-9.
- Racine, R., Newberry, F. and Burham, W. M. (1975a): Postactivation potentiation and the kindling phenomenon. EEG. Clin. Neurophysiol., 39: 261-71.
- Racine, R., Tuff, J. and Zaide, J. (1975b): Kindling unit discharge patterns and neural plasticity. Can. J. Sci. Neurol., 2: 395-405.
- Racké, K., Böhm, E., Hurth, S. and Muscholl, E. (1986): Endogenous opioids inhibit the in vitro release of endogenous dopamine preferentially in the neural lobe of the rat neurointermediate lobe. Life. Sci., 38: 1749-56.
- Reid, S. and Sybert, G. (1984): Chronic models of epilepsy. pp. 137-51. In: Schwartzkroin, P.A. and Wheal, H. V. (Eds.). Electrophysiology of Epilepsy. Academic Press, New York.
- Reynoso-Suárez, F. (1961): Topographister hirn atlas der katze. Fuer. Experimental Physiologister in Intersurchunger. E. Merck, A. G. Darmstadt.
- Rodin, E., González, S., Caldwell, D. and Laginess, D. (1966): Photic evoked responses during induced epileptic seizures. Epilepsia, 7: 202-14.
- Rodríguez, R., Capistrán, C., López, E., Beltrán del Río, L. and Luján, M. (1986): Kindling-like phenomenon in the isolated ileum of the guinea pig. Life Sci., 39: 1037-1041.
- Rutecki, P., Lebeda, F., and Johnston, D. (1985): Epileptiform activity induced by changes in extracellular potassium in hippocampus. J. Neurophysiol., 54: 1363-74.
- Sasaki, T., Kassell, N., Turner, D., Turner, J. and Coester, H. (1984): The effects naloxone on canine splanchnic arterial smooth muscle. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 177: 422-7.
- Shavit, Y., Caldecott-Hazard, S. and Liebeskind, J. (1984): Activating endogenous opioid systems by electroconvulsive shock or foot-shock stress inhibits recurrent kindling seizures in rats. Brain Res., 305: 203-7.
- Schreiber, R. A. (1979): The effect of naloxone on audiogenic seizures. Psychopharmacology, 66: 205-6.

Schwark, W.S., Frey, H.H. and Czuczwar, S.J. (1986): Effect of opiates on the parameters of seizures in rats with full amygdaloid-kindled convulsions. Neuropharmacology, 25: 839-44.

Snead, O.C. and Bearden, L.J. (1982): The epileptogenic spectrum of opiate agonist. Neuropharmacology, 21: 1137-44.

Snead, O.C. and Stephens, H. (1984): The ontogeny of seizures induced by leucine-enkephalin and beta endorphin. Ann. Neurol., 15:594-8.

Snyder, E., Dustman, R. and Schlehuber, C. (1981): Naloxone epileptogenesis in monkeys. J. Pharmacol. Exp. Ther., 217: 299-305.

Somjen, G.G. (1984): Interstitial ion concentration and the role of neuroglia in seizures. pp. 303-42. In: Schwartzkroin, P.A. and Wheal, H.V. (Eds.). Electrophysiology of Epilepsy. Academic Press, New York.

Spillantini, M.G. and Massoti, M. (1986): Inhibition of penicillin-induced EEG discharges by low doses of morphine or naloxone in the rabbit. Evidence for a possible non-opioid receptor-mediated mechanism at the sensorimotor cortex. Pharmacol. Biochem. Behav., 24: 1241-6.

Tokimasa, T., Morita, K. and North, A. (1981): Opiates and clonidine prolong calcium-dependent after-hyperpolarizations. Nature, 294: 162-3.

Tortella, F.C., Moreton, J.E. and Khazan, N. (1978): Electroencephalographic and behavioral effects of D-Ala² Methionine-enkephalinamide and morphine in the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther., 206: 636-42.

Tortella, F.C., Cowan, A., Belenky, G.L. and Holaday, J.W. (1981): Opiate-like electroencephalographic and behavioral effects of electroconvulsive shock in rats. Eur. J. Pharmacol., 76: 121-8.

Tortella, F. C. and Cowan, A. (1982a): Studies on opioid peptides as endogenous anticonvulsants. Life Sci., 31: 2225-8.

Tortella, F. C. and Cowan, A. (1982b): EEG, EMG, and behavioral evidence for the involvement of endorphin system in postictal events after electroconvulsive shock in rats. Life Sci., 31: 881-8.

- Tortella, F.C., Cowan, A. and Adler, M.W. (1984): Studies on the excitatory and inhibitory influence of intracerebroventricularly thresholds in rats. Neuropharmacology, 23: 749-54.
- Turski, L., Ikonomidou, C., Cavalheiro, E.A., Kleinrock, Z., Czuczwar, S.J. and Turski, W.A. (1985): Effects of morphine and naloxone in pilocarpine-induced convulsions in rats. Neuropeptides, 5: 315-8.
- Ueda, H., Fukushima, N., Kitao, T., Ge, M. and Takagi, H. (1986): Low doses of naloxone produce analgesia in the mouse brain by blocking presynaptic autoinhibition of enkephalin release. Neurosci. Lett., 65: 247-52.
- Urca, G., Frenk, H. and Liebeskind, J.C. (1977): Morphine and enkephalin: analgesic and epileptic properties. Science, 197: 83-6.
- Velasco, M., Velasco, F., Castañeda, R. and Sánchez, R. (1984): Effect of fentanyl and naloxone on human somatic and auditory-evoked potential components. Neuropharmacol., 23: 359-366.
- Villarrreal, J.E., Herrera, J.E. and Salazar, L.A. (1985): The nature of opiate dependence. Proc. West. Pharmacol. Soc., 89: 43-46.
- Vindrola, O., Briones, R., Asai, M. and Fernández-Guardiola, A. (1981a): Amygdaloid kindling enhances the enkephalin content in the rat brain. Neurosc. Lett., 21: 39-43.
- Vindrola, O., Briones, R., Asai, M. and Fernández-Guardiola, A. (1981b): Brain content of leu5- and met5- enkephalin changes independently during the development of kindling in the rat. Neurosc. Lett., 26: 125-30.
- Vindrola, O., Asai, M., Zubieta, M. and Linares, G. (1983): Brain content of immunoreactive (Leu5)-enkephalin and (Met5)-enkephalin after pentylenetetrazol-induced convulsions. Eur. J. of Pharmacol., 90: 85-9.
- Wada, J. (1976): Preface. In: J. Wada (Ed.), Kindling 1. Raven Press, New York.
- Wada, J. and Sato, M. (1974): Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala in cats. Neurology, 24: 565-74.
- Weinstein, S.H., Pteffer, M. and Schor, J. (1973): Metabolism and pharmacokinetics of naloxone. pp. 522-35. In: M. Braude,

L. Harris, E. May, J. Smith, and J. Villarreal, (Eds.), Narcotic Antagonism. Raven Press, New York.

Young, G. A. and Khazan, N. (1984): Differential neuropharmacological effects of mu, kappa and sigma opioid agonist on cortical EEG power spectral in the rat. Neuropharmacol., 23: 1161-5.

Zieglgansberger, W. and Bayer, H. (1976a): The effect of inhibition of neural activity by opiates in the spinal cord. Brain Res., 115: 111-28.

Zieglgansberger, W., Fry, J. P., Herz, A., Moroder, L. and Wunsch, E. (1976b): Enkephalin-induced inhibition of cortical neurons and the lack of this effect in morphine tolerant-dependent rats. Brain Res., 115: 160-4.