



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
CARRERA DE PSICOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA MANIPULACIÓN GABAÉRGICA Y ESTIMULACIÓN  
ELÉCTRICA DEL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO EN CRISIS  
INDUCIDAS POR PTZ**

## **TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

**PRESENTA:  
HIDALGO FLORES FERNANDO JOSUÉ**

### **JURADO DE EXAMEN**

**DIRECTOR: DR. VÍCTOR MANUEL MAGDALENO MADRIGAL**

**COMITÉ: DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ**

**DRA. LILIA MESTAS HERNÁNDEZ**

**DR. EDUARDO ALEJANDRO ESCOTTO CÓRDOVA**

**LIC. RUBÉN TORRES AGUSTÍN**



**FES  
ZARAGOZA**

**CIUDAD DE MÉXICO**

**AGOSTO 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## **Dedicatoria**

A mi madre quien a lo largo de este camino se ha convertido en mi ejemplo de fortaleza, lealtad, creatividad, nobleza y perseverancia.

A mis hermanos que sin su ayuda y apoyo no hubiera podido lograr llegar tan lejos.

A mi padre quien llego en el momento adecuado y me ha permitido vivir y aprender demasiado a su lado.

A mi abuela quien, aunque ahora solo vive en el recuerdo siempre confío mí. Y a mis tíos que siempre estuvieron ahí para regalarme un consejo.

A mis dos grandes amigos de la preparatoria, al equipo de lucha olímpica y a los amigos que pude hacer en la facultad por acompañarme siempre en mis derrotas y victorias.

A la Dra. Lilia por a verme mostrado el camino de la neurociencia y al Dr. Víctor quien me brindo la oportunidad y la confianza de poder trabajar a su lado y sobre todo por las enseñanzas que me ha regalado. Al Dr. Alejandro Valdés, al Dr. David Martínez y al Ingeniero Salvador Almazán por su orientación y apoyo dentro del laboratorio.

Al mejor equipo de laboratorio. A Gerardo por brindarme su conocimiento, orientación y apoyo durante y fuera del experimento. A Juan por su colaboración y diversión. A Claudia y Jacqueline por brindarme toda su ayuda y confianza y por hacer del laboratorio un lugar tan agradable y divertido. Pero sobre todo muchas gracias por su amistad.

## Abreviaturas

<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato
<b>BC</b>	Bicuculina
<b>BCF</b>	Baclofen
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcio
<b>CGTC</b>	Crisis generalizadas clónico-tónicas
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Cloro
<b>Cx</b>	Corteza Cerebral
<b>DBS</b>	Estimulación cerebral profunda ( <i>Deep Brain Stimulation</i> )
<b>DBS-LFS</b>	Estimulación cerebral profunda a baja frecuencia ( <i>Low Frequency Stimulation</i> )
<b>DEI</b>	Descargas epileptiformes interictales
<b>DPD</b>	Descargas paroxísticas despolarizantes
<b>EEG</b>	Electroencefalografía
<b>EPSPs</b>	Potencial Postsinaptico excitatorio
<b>FAE</b>	Fármacos antiepilépticos
<b>GABA</b>	Ácido gamma amino-butírico
<b>GABA/DBS-LFS</b>	GABA-Estimulación cerebral profunda a baja frecuencia
<b>GAERS</b>	Ratas con crisis de ausencia modificadas genéticamente ( <i>Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg</i> )
<b>HFS</b>	Estimulación de alta frecuencia ( <i>High Frequency Stimulation</i> )
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IBE</b>	International Bureau for Epilepsy
<b>ILAE</b>	Liga Internacional Contra la Epilepsia
<b>IPSPs</b>	Inhibitory Postsynaptic Potential
<b>K<sup>+</sup></b>	Potasio

<b>Kg</b>	Kilogramos
<b>LFS</b>	Estimulación a baja frecuencia ( <i>Low Frequency Stimulation</i> )
<b>LTS</b>	Espigas de bajo umbral ( <i>Low Threshold Spike</i> )
<b>mA</b>	Microampers
<b>Mg</b>	Miligramos
<b>ml</b>	Mililitros
<b>μl</b>	Microlitros
<b>ms</b>	Milisegundos
<b>MSC</b>	Muscimol
<b>Na<sup>+</sup></b>	Sodio
<b>ng</b>	Nanogramos
<b>NRT</b>	Núcleo reticular del tálamo
<b>OMS</b>	Organización mundial de la Salud
<b>PA</b>	Potencial de acción
<b>PTX</b>	Picrotoxina
<b>PTX/DBS-LFS</b>	Picrotoxina -Estimulación cerebral profunda a baja frecuencia
<b>PTZ</b>	Pentilentetrazol
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SS</b>	Solución salina
<b>SS/DBS-LFS</b>	Solución salina-Estimulación cerebral profunda a baja frecuencia
<b>SWD</b>	Descarga Espiga-Onda ( <i>Spike Wave Discharge</i> )
<b>SWS</b>	Sueño de Ondas Lentas ( <i>Spike Wave Sleep</i> )
<b>WAG/Rij</b>	Wistar Albino Glaxo/Rij-rat

## Resumen

La epilepsia es una enfermedad neurológica que se caracteriza por la aparición repentina y recurrente de actividad paroxística del sistema nervioso central (SNC). Se presenta con movimientos anormales del cuerpo y una sincronización de la actividad eléctrica cortical, debido a la descarga excesiva de poblaciones neuronales (Fisher, 2014).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la epilepsia afecta alrededor de 50 millones de personas en el mundo, de los cuales aproximadamente una tercera parte de estas personas no responden efectivamente al tratamiento farmacológico (Cruz-Cruz, 2017; Fisher et al., 2017). Por esta razón se han empleado tratamientos alternativos que puedan ayudar a mejorar la calidad de vida de las personas ubicadas en este sector de la población.

Uno de los tratamientos alternativos utilizados en el control de la epilepsia refractaria y con efectos positivos en el control de las crisis epilépticas es la (DBS, *Deep Brain Stimulation* por sus siglas en inglés) que ha demostrado ser una técnica segura, adaptable y con resultados positivos sobre el tratamiento de la epilepsia refractaria (Goodman, Berger & Tcheng, 2005). A pesar de que aún se desconoce el mecanismo exacto sobre su efectividad; los efectos antiepileptogénicos de la DBS van a depender de los parámetros de estimulación seleccionados y la estructura donde se llevara a cabo la estimulación, así como el tiempo y la frecuencia del estímulo.

Una de las estructuras que participa en la sincronización de la actividad neuronal es el núcleo reticular del tálamo (NRT), el cual se compone en su mayoría por células GABAérgicas y que de acuerdo con la revisión de la literatura interviene en la generación de la actividad epileptiforme (Steriade, 2005; Pinault, 2004). Es por esto que el objetivo del presente trabajo fue identificar los cambios conductuales y electroencefalográficos que produce la

DBS-LFS (*Deep Brain Stimulation-Low Frequency Stimulation* por sus siglas en inglés) concomitante a la aplicación de agonistas y antagonistas GABAérgicos sobre el NRT de ratas, en un modelo de crisis generalizadas tónico clónicas (CGTC) inducidas por pentilentetrazol (PTZ).

Para este proyecto se utilizaron 57 ratas de la cepa Wistar implantadas con un electrodo tripolar con cánula en el NRT izquierdo, dos electrodos epidurales en la corteza motora para el registro electroencefalográfico (EEG). Los roedores fueron divididos en 3 grupos y cada grupo se subdividió en dos tratamientos diferentes, los grupos que no recibieron tratamiento quedaron conformados de la siguiente manera: grupo solución salina (SS); grupo picrotoxina (PTX) y grupo GABA. Los grupos que recibieron DBS-LFS fueron los siguientes: SS/DBS-LFS, PTX/DBS-LFS y GABA/DBS-LFS.

El protocolo experimental para los animales que no recibieron tratamiento consistió en un registro de 10 minutos de línea base, posteriormente una micro-infusión de la dosis del fármaco de acuerdo con el grupo en el NRT izquierdo; y 5 minutos después la acción de la sustancia se administró una dosis de PTZ vía intraperitoneal de 50 mg/kg para inducir las CGTC. Del mismo modo, para los grupos que recibieron el tratamiento de la DBS-LFS, el protocolo experimental fue el mismo con la excepción de que se realizó la estimulación a 8Hz, con 0.1 ms de ancho de pulso, y 200  $\mu$ A durante 10 minutos previamente a la micro-infusión farmacológica.

Se analizaron el número de CGTC, gravedad, latencia, duración, intervalo y el número de descargas Espiga-Onda (SWD *Spike Wave Discharge* por sus siglas en inglés) observadas conductualmente y en el EEG. Además, se analizaron periodos de un minuto antes y después de la micro-infusión farmacológica.

Los resultados mostraron que la aplicación de PTX sobre el NRT disminuyó la aparición de SWD con respecto a los demás grupos, debido a un incremento observado en la aparición de CGTC y su gravedad, al igual que un aumento en la frecuencia de espigas de acuerdo con la duración de las CGTC, así como una reducción en el tiempo de intervalo entre crisis. Además, se observó un decremento en las frecuencias Beta y Gamma en los grupos que recibieron PTX y GABA. Por otra parte, la DBS incremento la duración de las CGTC en el grupo SS/DBS-LFS y la frecuencia de espigas en el grupo PTX/DBS LFS.

Con lo que concluimos que la micro-infusión de PTX al NRT potencializa la actividad epileptiforme en crisis inducidas. Respecto a la aplicación de DBS-LFS también podría presentar un efecto pro-convulsivo. Estos resultados sugieren que las propiedades GABAérgicas intrareticulares tienen una participación importante en la génesis y el desarrollo de la actividad epileptiforme la cual se ve favorecida con el uso de DBS-LFS. Sin embargo, nuestra recomendación se basa en que se deben de realizar más investigaciones acerca de la participación que podría tener el NRT como una estructura funcional dentro de los tratamientos alternativos.



<b>Índice</b>	
<b>1. Epilepsia</b>	<b>8</b>
<b>1.2 Clasificación de las Crisis epilépticas</b>	<b>9</b>
1.2.1 <i>Crisis Focales</i>	10
1.2.2 <i>Crisis Generalizadas</i>	10
<b>1.3 Síndrome epiléptico</b>	<b>11</b>
<b>1.4 Fisiopatología de la epilepsia</b>	<b>13</b>
1.4.1 <i>Fisiopatología de las crisis focales</i>	14
1.4.2 <i>Fisiopatología de las crisis generalizadas</i>	14
<b>1.5 Bioquímica de la epilepsia</b>	<b>14</b>
<b>1.6 Tratamientos</b>	<b>17</b>
<b>1.7 Modelos experimentales de Epilepsia</b>	<b>18</b>
1.7.1 <i>Modelo de pentilentetrazol</i>	20
<b>2. Núcleo Reticular del Tálamo</b>	<b>21</b>
2.1 Propiedades Intrínsecas del NRT	21
2.2 Mecanismo del huso de sueño	23
2.3 Crisis de Ausencia	23
2.4 Mecanismos GABAérgicos en el NRT	25
<b>3. Estimulación cerebral profunda</b>	<b>28</b>
3.1 Estimulación cerebral profunda en el núcleo reticular del tálamo	30
<b>4. Justificación</b>	<b>31</b>
<b>5. Objetivo</b>	<b>32</b>
5.1 Objetivos específicos	32
<b>6. Hipótesis</b>	<b>33</b>
<b>7. Variables Independientes</b>	<b>33</b>
<b>8. Variables Dependientes</b>	<b>34</b>
<b>9. Método</b>	<b>35</b>
9.1 Aparatos	35
9.2 Materiales	35
9.3 Sustancias	35

<b>10. Procedimiento experimental</b>	<b>36</b>
10.1 Animales experimentales	36
10.2 Grupos y procedimiento experimental	36
10.3 Implante de electrodos	38
10.4 Registro de la actividad EEG y de la DBS en el NRT	38
10.5 Análisis Espectral	40
10.6 Análisis Estadístico	40
<b>11. Resultados</b>	<b>41</b>
11.1 Análisis conductual y electroencefalográfico	41
11.2 Análisis espectral	47
<b>Discusión</b>	<b>49</b>
<b>12. Conclusiones</b>	<b>50</b>
<b>13. Consideraciones finales</b>	<b>51</b>
<b>Referencias</b>	<b>52</b>

## 1. Epilepsia

La epilepsia es un trastorno neurológico que se caracteriza por la aparición repentina y continua de actividad paroxística del (SNC), que está asociada a cambios conductuales y EEG debido a una descarga excesiva de la actividad neuronal.

Actualmente la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE, *International League against Epilepsy* por sus siglas en inglés) y la Oficina Internacional para la Epilepsia (IBE, *International Bureau for Epilepsy* por sus siglas en inglés) acordaron considerar a la epilepsia como una enfermedad, debido a que su alteración funcional tiene mayor prolongación en el tiempo en comparación a un trastorno. Para su diagnóstico se toma como criterio la presencia de al menos dos crisis reflejas (no provocadas), separadas por un lapso de 24 horas con la probabilidad de aparición de crisis posteriores con un riesgo de 10 años.

La ILAE por otro lado define a la epilepsia como una predisposición recurrente a la aparición de crisis epilépticas y sus consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales. Mientras que las crisis epilépticas son puntualizadas como la aparición de signos y/o síntomas ocasionados por una actividad neuronal anómala excesiva o sincrónica en el cerebro (Fisher et al., 2017).

La etiología se puede categorizar en seis diferentes maneras (Falco-Walter, Scheffer & Fisher, 2018): 1) Estructural, que permite observar alguna anomalía localizada sobre el cerebro por medio del uso de técnicas de neuroimagen o registros electroencefalográficos. 2) Genética, son de base hereditaria y provocadas por variantes dentro de los genes o copias de estos mismos. 3) Infecciosa, se refiere a pacientes con epilepsia y no a personas que presenten convulsiones a causa de una infección grave. 4) Metabólica,

hace alusión a las personas que adquirieron epilepsia a partir de un trastorno metabólico. 5) Inmunológica, originada a partir de enfermedades autoinmunes y 6) Desconocida, su etiología aún se desconoce.

## **1.2 Clasificación de las Crisis epilépticas**

Las crisis epilépticas pueden ser diferenciadas de acuerdo con su duración ya sean estas temporales, cortas y prolongadas o recurrentes denominadas de estado epiléptico; otro tipo de crisis son las sintomáticas agudas que hacen referencia a alguna agresión sobre el SNC debido a daños metabólicos, tóxicos, estructurales o infecciosos debidos a una inflamación.

Al origen de la actividad epiléptica se le denomina epileptogénesis definida como una cascada de eventos biológicos que alteran el equilibrio entre excitación e inhibición en las redes neuronales. Se clasifica de acuerdo con la etiología, la sintomatología, los fenómenos ictales, entre otros. Con el objetivo de facilitar una correcta identificación y diagnóstico de acuerdo con su tipo de propagación, ya sea, focal, generalizado o desconocido (Fisher et al., 2017) (Figura 1).

En cuanto al período de las crisis epilépticas, éste se divide en tres tipos diferentes de acuerdo con su aparición, el primero de ellos es el período ictal o *ictus*, que se refiere a la crisis epiléptica en acción la cual puede durar desde segundos hasta minutos. El segundo período es el post-ictal, que hace referencia al tiempo posterior a la crisis y su duración puede variar desde minutos a días, en este período suele presentarse la depresión post-ictal. Y por último se encuentra el período inter-ictal que es aquel tiempo de intervalo transcurrido entre crisis (López-Meraz et al., 2009).

### **1.2.1 Crisis Focales**

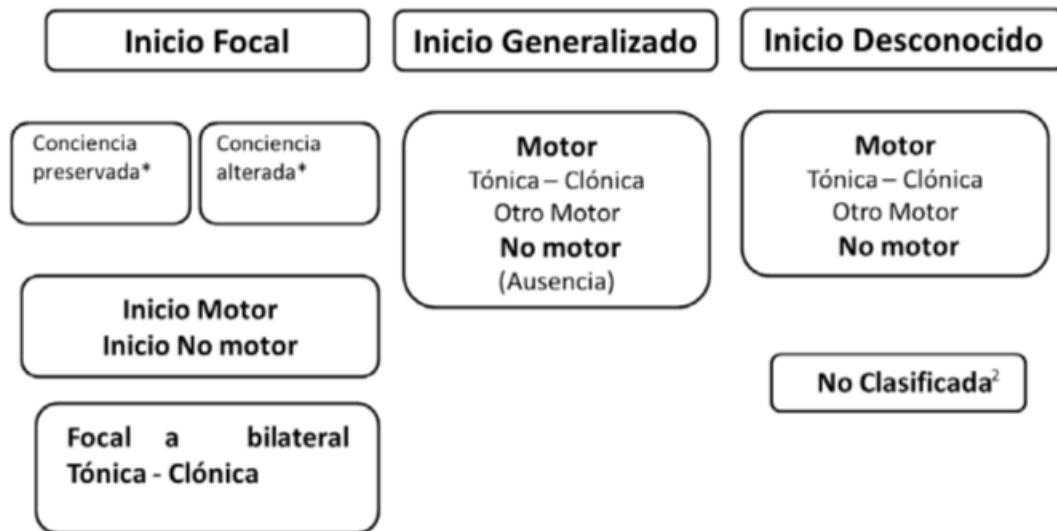
Las crisis epilépticas focales se originan en redes neuronales limitadas a un sólo hemisferio cerebral y pueden estar discretamente localizadas o distribuidas a través de estructuras corticales o subcorticales. Éstas pueden presentar o no alteraciones en la conciencia.

El desarrollo de la actividad epileptiforme dentro de las crisis epilépticas focales puede ser ocasionado por la generación de descargas tipo ráfaga en múltiples neuronas provocando una mayor liberación en el número de neurotransmisores excitatorios o inhibitorios, otra causa podría ser una reducción en la inhibición de los neurotransmisores de ácido gamma-amino-butírico (GABA) o por lo contrario un incremento en el número de potenciales post-sinápticos excitatorios (EPSPs, *Excitatory Postsynaptic Potential* por sus siglas en inglés) que generan múltiples despolarizaciones post-sinápticas de larga duración y a altas frecuencias. Esto va a generar un potencial de campo extracelular característico de las espigas epilépticas presentes en el EEG (López-Meraz et al., 2009; Fisher et al., 2017).

### **1.2.2 Crisis Generalizadas**

Este tipo de crisis epilépticas se originan en redes neuronales que se distribuyen bilateralmente sobre estructuras corticales o subcorticales, su propagación puede ser simétrica o asimétrica y no necesariamente incluye a toda la corteza cerebral. La conciencia se puede ver alterada como una posible manifestación inicial. Además de la presencia de conductas motoras bilaterales que pueden dividirse en crisis convulsivas tónicas, clónicas o tónico-clónicas y en crisis no convulsivas como son las crisis de ausencia, mioclonia y atónicas.

Algunos de los mecanismos involucrados en el inicio y desarrollo de las crisis epilépticas generalizadas son: 1) una respuesta anormal e hiperexcitable de las neuronas corticales con proyecciones talámicas, 2) la existencia de algún generador subcortical primario y 3) inervaciones anormales de algunas estructuras subcorticales con proyecciones dirigidas hacia la Cx cerebral (López-Meraz et al., 2009).



**Figura 1. Clasificación básica de los tipos de crisis de acuerdo con la ILAE 2017.** \*La conciencia se presenta como una característica dentro de la clasificación de las crisis epilépticas; la conciencia preservada hace referencia al reconocimiento de sí mismo que tiene la persona durante la crisis epiléptica incluso en estado inmóvil. Mientras que la conciencia alterada puede aparecer en cualquier parte durante el desarrollo de la crisis. <sup>2</sup>Las crisis no clasificadas son aquellas que se desconoce su etiología y que no pueden ser ubicadas en otras categorías de tipos de crisis. Tomado de Fisher et al., 2017.

### 1.3 Síndrome epiléptico

El diagnóstico de un síndrome epiléptico se toma a partir de la edad de inicio de las crisis, su tipología, el historial familiar, la semiología y sintomatología. Estos síndromes se dividen en focales y generalizados; pueden ser

sintomáticos o idiopáticos y en algunas ocasiones estar acompañados de algunas características motoras (Tabla 1).

<b><i>Mioclónica</i></b>	Contracciones irregulares breves, bruscas e involuntarias de un músculo o un grupo de músculos.
<b><i>Fenómenos Clónicos</i></b>	Contracciones repetitivas que afectan a los mismos grupos musculares a una frecuencia de 2-3 Hz.
<b><i>Tónica</i></b>	Aumento mantenido en la contracción que puede durar varios segundos o minutos.
<b><i>Versivas</i></b>	Rotación forzada de la parte superior del cuerpo con mantenimiento de la mirada.
<b><i>Espasmos</i></b>	Flexiones o extensiones de un grupo de músculos con duraciones más prolongadas que una mioclónica y menos que una crisis tónica.
<b><i>Atónicas</i></b>	Ausencia del tono muscular.
<b><i>Automatismos</i></b>	Actividades coordinadas y repetitivas entre las que destacan las expresiones miméticas, oroalimentarias y dacrísticas.

**Tabla 1.** Se resumen los signos motores y vegetativos presentes dentro de los síndromes de epilepsia de acuerdo con Torres (2015).

## **1.4 Fisiopatología de la epilepsia**

A finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX la investigación neurocientífica presenta una proliferación abrupta sobre el descubrimiento de nuevos conocimientos debido a la aplicación de nuevas tecnologías; una de las ramas que más se enriqueció fue la fisiología. Ya que, gracias al descubrimiento del EEG realizado por Hans Berger en 1929 se estableció una relación entre la actividad eléctrica cortical y algunas secuencias oscilatorias con respecto a diversas manifestaciones conductuales.

Los conocimientos previos acerca del mapeo cerebral y las bases sobre la comprensión de la epilepsia realizadas por Penfield (Hogan & English, 2012; Shorvon, 2013; Ladino, Rizvi & Téllez-Zenteno, 2018) así como, el desarrollo de instrumentos estereotáxicos por parte de Talairach y Bancaud, se pudieron llevar a cabo los primeros registros EEG invasivos sobre la Cx de la mano de Forster y Altenburger (Reif, Strzelczyk & Rosenow, 2016). Con el objetivo de comprender los mecanismos fisiológicos del cerebro y la epilepsia en diversas estructuras cerebrales.

Con el uso del EEG se logró identificar la actividad neuronal dentro de una crisis epiléptica y sus alteraciones paroxísticas e hipersincrónicas sobre estructuras corticales y subcorticales cuyas manifestaciones podrían variar de acuerdo con el tipo de circuitos implicados y/o su patrón de propagación (Steriade & Timofeev, 2003).



### **1.4.1 Fisiopatología de las crisis focales**

Ocurren por medio de descargas epileptiformes interictales (DEI) en un grupo pequeño de neuronas corticales que registradas en el EEG se pueden visualizar como descargas de punta u onda aguda. Este tipo de descargas van a producir una despolarización prolongada calcio dependiente seguida de una hiperpolarización (Izquierdo, 2005).

### **1.4.2 Fisiopatología de las crisis generalizadas**

Este tipo de crisis se desarrolla a través de interacciones entre el circuito tálamo-cortical. Este circuito se conforma de neuronas piramidales en la corteza e interneuronas dentro del NRT. Estas interneuronas talámicas tienen la característica de disparar actividad tipo oscilatoria, la cual en estado patológico va a producir una sincronización paroxística de la actividad eléctrica sobre estructuras corticales y subcorticales provocando crisis generalizadas (Izquierdo, 2005).

## **1.5 Bioquímica de la epilepsia**

El cerebro humano es un órgano con un peso alrededor de 1.5kg y un volumen de 1350-1500cm<sup>3</sup>, conformado aproximadamente por 86 mil millones de neuronas que se comunican entre sí a través de electricidad, esta comunicación se lleva a cabo por medio de dos vías diferentes, la primera de ellas es el potencial de acción (PA) o impulso eléctrico que es una descarga que viaja a lo largo de la membrana celular modificando la distribución de cargas eléctricas. Estas cargas eléctricas se encuentran polarizadas siendo el polo negativo el interior de la célula y el polo positivo su exterior, a este estado de la neurona se le denomina *potencial de reposo* (-70mV) e indica una mayor concentración de iones de Na<sup>+</sup> sobre el espacio

extracelular que fluyen lentamente al interior de la neurona mientras que los iones de  $K^+$  fluyen hacia el exterior.

Sin embargo, es por medio de las bombas  $Na^+$  y  $K^+$  que son sistemas enzimáticos productores de adenosin trifostato (ATP) un compuesto del cual la célula obtiene gran parte de la energía que necesita comenzando el intercambio iónico activo.

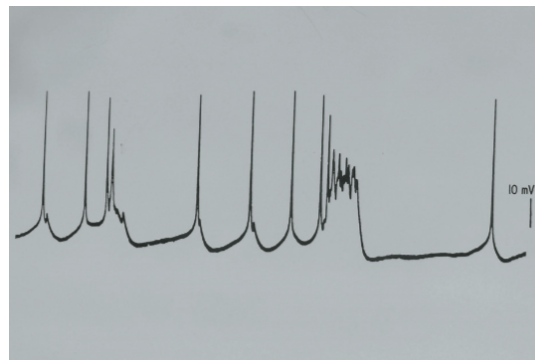
Durante los PA (+30mV) cuando la membrana es despolarizada, los canales de  $Na^+$  se abren permitiendo la entrada de iones de  $Na^+$  desde el espacio extracelular hacia el espacio intracelular incrementando las cargas positivas. Mientras que la salida de iones  $K^+$  es la encargada de llevar a la célula a un estado de repolarización. Por otra parte, cuando el flujo hacia el interior de la célula está compuesto de iones de  $K^+$  o de iones con carga eléctrica negativa como el  $Cl^-$  el potencial de membrana tenderá a una hiperpolarización (-80mV).

Esta propagación de PA a lo largo de los axones transmite información dentro del SNC. Cuando este estímulo llega a la terminal pre-sináptica del axón se produce una entrada de iones de  $Ca^+$  en la célula, desencadenando la liberación de neurotransmisores por medio de la expulsión de vesículas hacia el espacio extracelular, y posteriormente estos neurotransmisores serán recapturados por el botón post-sináptico de una neurona continua.

A esta segunda vía se le denomina sinapsis y de acuerdo con los neurotransmisores liberados pueden ser de características excitatorias EPSPs o inhibitorias (IPSPs, *Inhibitory Postsynaptic Potential* por sus siglas en inglés) y son las encargadas de regular la actividad eléctrica del cerebro (Rein & Morales, 2007).

Estas bases bioeléctricas acerca de cómo se comporta el intercambio de información a nivel cortical permite comprender los mecanismos de acción y propagación de la epilepsia a partir de un nivel celular. Evidencia experimental ha demostrado cambios dentro de las estructuras de los receptores post-sinápticos que contribuyen al incremento de la excitabilidad neuronal; así como una disminución en la síntesis de neurotransmisores GABAérgicos, taponamientos defectuosos en los canales de  $\text{Ca}^{2+}$ , una activación de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y el incremento de la sincronización neuronal debido a interacciones no sinápticas.

Con el uso de EEG se han podido registrar uno de los mecanismos de propagación a este nivel, que son las descargas paroxísticas despolarizantes (DPD), que van de los 20-40mV y su duración oscila entre los 50-200ms y dispara un tren de PA sobre el pico máximo de la DPD seguida de una descarga hiperpolarizante (Alonso, Bramasco & Moreno, 2004) (Figura 2).



**Figura 2. Imagen de un registro intracelular de una neurona.** Se pueden observar descargas rítmicas seguida de una actividad paroxística inducida por pentilentetrazol. Tomada de Goiz-Márquez et al., 2008.

## 1.6 Tratamientos

La epilepsia es una enfermedad compuesta por diferentes mecanismos biológicos y fisiológicos en estado patológico por lo que para su correcto diagnóstico se recomienda una intervención multidisciplinaria que apoye la elección del tratamiento.

El tratamiento que actualmente es más utilizado para la epilepsia es la administración crónica y continúa de fármacos antiepilépticos (FAE), cuya finalidad es poder controlar las crisis epilépticas con los menores efectos adversos, con el fin de mejorar la calidad de vida de los pacientes. Los FAE previenen la aparición de crisis epilépticas actuando selectivamente sobre la excitabilidad de las neuronas, modificando la actividad de los canales iónicos ya sea disminuyendo la actividad excitatoria o aumentando la inhibitoria. Sin embargo, alrededor del 25% de los pacientes que reciben este tratamiento continúan presentando crisis, a este fenómeno se le denomina epilepsia refractaria o farmacorresistente.

Las ciencias médicas buscan implementar el uso de tratamientos alternativos que puedan beneficiar a este porcentaje de la población mejorando su calidad de vida. Estos son algunos de los tratamientos alternativos utilizados actualmente: (Gómez, Vilaplana & Sancho, 2015; López-González et al., 2014)

1- *Cirugía*: su objetivo es la disminución o eliminación de las crisis epilépticas mediante la extracción de la estructura o zona epiléptica. En dado caso de que la resección no pudiera ser posible de realizar, se puede recurrir como segunda opción a la cirugía paliativa o de desconexión. Ya sea del cuerpo calloso o zonas múltiples.

- 2- *Radiocirugía gamma*: consiste en la abolición de un pequeño volumen de tejido cerebral por medio de la aplicación de una dosis alta de radiación, se utiliza comúnmente en epilepsias de tipo temporal.
- 3- *Estimulación cerebral profunda*: a pesar de que aún se desconocen los mecanismos de acción que la DBS pudiera tener, se considera que su papel regulador interviene en génesis y transmisión de crisis epilépticas sobre algunas estructuras corticales y subcorticales.
- 4- *Estimulación del nervio vago*: es la aplicación periódica de estímulos eléctricos sobre el nervio vago por medio del uso de electrodos situados alrededor del mismo. Este tratamiento sirve como alternativa para los pacientes que presentan epilepsia refractaria.
- 5- *Dieta Cetógena*: está basada en la sustitución de carbohidratos por lípidos. Esta dieta favorece a la síntesis de glutamina que es el precursor de GABA causando una acción antiepiléptica directa.

### **1.7 Modelos experimentales de Epilepsia**

El uso de modelos experimentales aplicado en animales es una herramienta de suma utilidad que a través del tiempo ha beneficiado el progreso del conocimiento científico sobre la comprensión de algunas patologías. Dentro del campo de la investigación epiléptica estos modelos son utilizados por su alta capacidad de reproducir dicho fenómeno (Tabla 2). Gracias a esta reproductibilidad se puede conocer más acerca de cómo se desarrolla la epilepsia en diversas estructuras corticales y subcorticales, su fisiología y conducta, así como la aplicación y prueba de nuevos fármacos y tratamientos alternativos que atenúen la aparición de la actividad epileptogénica.

<b>Aplicación tópica</b>	se refiere a la aplicación de metales sobre la Cx sensitiva o motriz, algunos de ellos son el aluminio, el cobalto, derivados férricos etc. De 1-2 meses posteriores a la aplicación comienzan a aparecer crisis con sacudidas contralaterales al lugar lesionado.
<b>Aplicación tópica de sustancias convulsivas</b>	se utiliza la aplicación de antagonistas tipo GABAérgico.
<b>Fenómeno Kindling</b>	consiste en aplicar estimulación eléctrica o química de manera crónica sobre diversas estructuras del sistema límbico, provocando con el paso del tiempo un incremento en la excitabilidad neuronal capaz de provocar crisis epilépticas.
<b>Modelo de estado epiléptico</b>	es generado mediante una inyección sistémica o intracerebral de diferentes agentes de tipo convulsivo (ácido kaínico o pilocarpina). Este modelo permite observar cambios anatomopatológicos durante las fases iniciales y tardías.
<b>Modelos transgénicos</b>	utiliza ratones Knock-out a los que se les eliminó un gen específico que interviene en la excitabilidad o inhibición neuronal.
<b>Modelos genéticamente epileptógenos</b>	son animales que por medio de alteraciones genéticas presentan rasgos hereditarios epileptogénicos. En estos modelos los más utilizados son las ratas de la cepa GAERS ( <i>Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg</i> ) y las WAG/Rij de Nijmegen que presentan de manera espontánea descargas espiga-onda (SWD, <i>Spike Wave Discharge</i> por sus siglas en inglés) de 7-11Hz con 10-17s de duración. Que son descargas características de las crisis de ausencia.

---

**Crisis reflejas** dentro de la Cx existen zonas con un umbral de excitación disminuido y funcionalmente anómalo que cuando es activado por un estímulo externo genera crisis epilépticas.

---

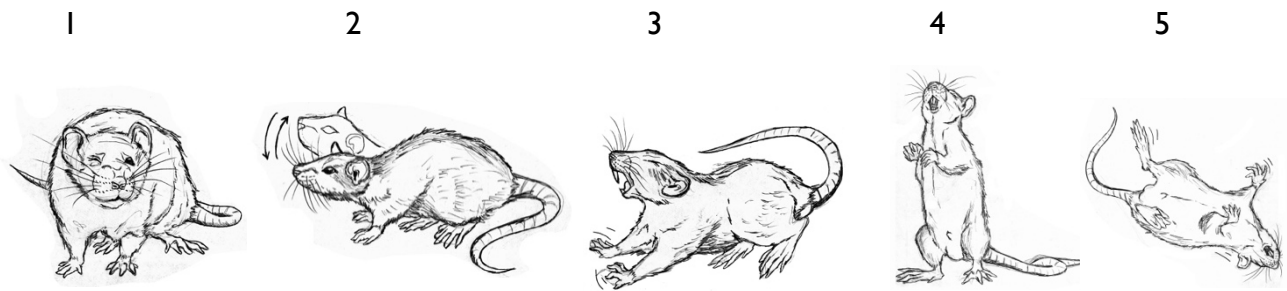
**Tabla 2.** Sobre algunos de los modelos experimentales más utilizados dentro del campo de la investigación de la actividad epileptogénica (Resumido de Garcia, Garcia & Matías 2009; Lüttjohann, Fabene & Luijtelaar, 2009; Alonso, Bramasco & Moreno, 2004).

### 1.7.1 Modelo de pentilentetrazol

El PTZ es un fármaco antagonista no competitivo de los receptores GABA<sub>A</sub>. Un gran número de evidencias científicas indica que el mecanismo de acción del PTZ consiste en su unión con el receptor GABA<sub>A</sub> bloqueando el libre paso de iones de Cl<sup>-</sup> evitando así PA inhibitorios, exacerbando los PA excitatorios.

Este modelo de inducción química es utilizado para la evaluación de convulsiones clónico-tónicas, la aplicación por medio de vía sistémica a dosis bajas (20 mg/kg) produce crisis de ausencia, mientras que dosis mayores a (50 mg/kg) produce crisis generalizadas clónico-tónicas (CGTC).

El patrón conductual evocado puede ser medido con el uso de la escala de Lüttjohann que evalúa la intensidad de las convulsiones de acuerdo con sus características conductuales. (Lüttjohann, Fabene & Luijtelaar, 2009; Ramos-Morales et al., 2012) (Figura 3).



**Figura 3. Representación gráfica de los estadios conductuales dentro de una CGTC.**

Estadio 1: movimientos faciales como guiño de ojo y masticación, estadio 2: movimientos del cuello o nodding, estadio 3: crisis clónicas, estadio 4: convulsiones clónicas con levantamiento de las extremidades anteriores (posición de canguro), estadio 5: convulsiones clónicas, tónico-clónicas con pérdida de la postura.

## 2. Núcleo Reticular del Tálamo

El NRT es una estructura conformada por células GABAérgicas de conexiones dendo-dentríticas que cubre las partes dorso-laterales y ventrales del tálamo, y que tiene una participación fundamental dentro del circuito cortico-tálamo-cortical, ya que recibe inputs glutamatérgicos monosinápticos desde la Cx y envía proyecciones GABAérgicas hacia el tálamo (Figura 4); generando una sincronización en la actividad eléctrica de baja frecuencia, además de que promueve la aparición de husos de sueño durante el sueño de ondas lentas (*SWS*, *Spike Wave Sleep* por sus siglas en inglés) (Steriade, 2005; Pinault, 2004).

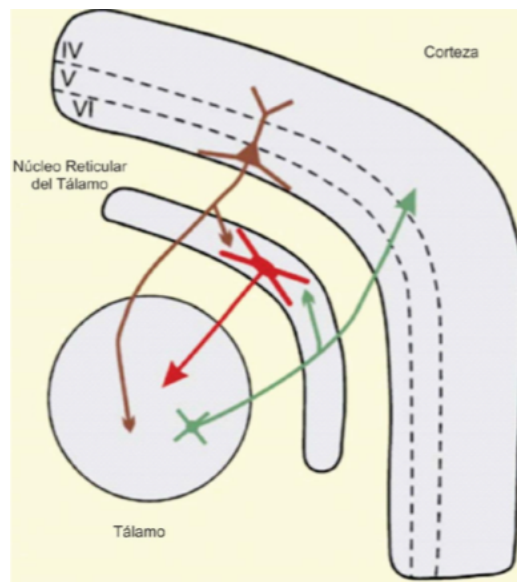
### 2.1 Propiedades Intrínsecas del NRT

El NRT se encuentra dividido en siete sectores, de los cuales cinco de ellos son de tipo sensorial (auditivo, gustativo, somato sensorial, visceral y visual), uno límbico y otro motor. En cuanto a su arquitectura neuronal se han identificado dos tipos de neuronas: 1) Fusiformes, que son neuronas que se



caracterizan por tener un soma alargado y una arborización dendrítica que se extiende a lo largo de los planos rostro-caudales y dorso-ventrales. 2) las células con soma de forma redonda y con dendritas multipolares que predominan el polo rostral.

Algunas de las propiedades que se conocen son: las diferentes conductancias iónico-dependientes de voltaje ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{k}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ ) y los diferentes patrones de disparo, caracterizados por descargas de tipo ráfaga y tónico; las descargas tipo ráfaga ocurren durante el estado de SWS y posteriormente serán remplazadas por disparos tipo tónico durante los estados de vigilia (Pinault, 2004).



**Figura 4. Representación del circuito cortico-tálamo-cortical.**

Se puede apreciar las proyecciones cortico-talámicas en café y tálamo-corticales en verde; al igual que inervaciones que van al NRT y sus proyecciones en dirección hacia el tálamo, en color rojo. Tomada de Pinault, 2004.

## 2.2 Mecanismo del huso de sueño

Los husos de sueño son ritmos oscilatorios con una frecuencia de 7-14Hz y con duraciones alrededor de 1-3s que aparecen durante el SWS (0.5-4Hz) y son generados a partir de corrientes de  $Ca^{2+}$  provocadas a partir de sinapsis GABAérgicas dentro de las interacciones tálamo-corticales en coordinación con el NRT (Bazhenov, Timofeev, Steriade and Sejnowski, 2000; Stuart & Terrance, 2012).

Su mecanismo de propagación comienza por medio de sinapsis glutamatérgicas provenientes de la Cx que van a excitar a neuronas del NRT, generando espigas de bajo umbral (LTS, *Low Threshold Spike* por sus siglas en inglés) que a su vez promoverán la aparición de descargas tipo ráfaga con hiperpolarizaciones prolongadas y secuencias cíclicas (de tipo rebote) de IPSPs eléctricamente acopladas.

En resumen, las sinapsis GABAérgicas dentro del NRT van a provocar una activación de las corrientes de  $Ca^{2+}$  de bajo umbral, éstas a su vez promoverán la descarga de disparos tipo ráfaga generando hiperpolarizaciones post sinápticas acopladas que darán como resultado un conjunto de rebotes IPSPs dentro del NRT y éste a su vez transmitirá descargas tipo ráfaga a las vías tálamo-corticales sincronizando así la actividad eléctrica (Steriade, 2005; Fuentealba & Steriade, 2005).

## 2.3 Crisis de Ausencia

Las crisis de ausencia son crisis no convulsivas que se caracterizan por la aparición sincrónica y bilateral de SWD en el EEG y son acompañadas de automatismos tónicos o clónicos que afectan a las extremidades, ojos y párpados, así como de *arrest* o detenimientos conductuales. Fisiológicamente estas SWD son complejos oscilatorios de 3Hz en humanos

acompañados de disparos (Spikes) y silencios neuronales (Waves) que tienen un origen indefinido dentro del circuito cortico-tálamo-cortical (Steriade, 2005; Liu, Vergnes, Depaulis & Marescaux, 1991).

Evidencia experimental y el uso de registros EEGs han mostrado la presencia de SWD sobre la Cx después de haber lesionado zonas talámicas, de igual manera la aplicación de agonistas y antagonistas GABAérgicos a nivel cortical y talámico modifica la aparición de las SWD.

Con estos datos se han propuesto diversas teorías acerca del origen y la propagación de estas descargas: la teoría cortical, hace énfasis en que las SWD se propagan a partir de la Cx hacia otras estructuras corticales y talámicas, la teoría cortico-reticular establece que el origen de las SWD se sitúa dentro del circuito cortico-tálamo-cortical junto con el tronco encefálico, en la teoría intratalámica, por medio de registros EEGs se pudo observar que ablaciones sobre la Cx no interferían con la aparición de las descargas, pero por otro lado, ablaciones sobre el NRT si provocaban una desaparición de las descargas con respecto a la Cx; con lo que se sugiere que las descargas epilépticas son el resultado de una anormalidad dentro de las oscilaciones rítmicas, por último, la teoría del foco epiléptico hace énfasis en que la hiperexcitabilidad neuronal de una parte de la Cx va a propagarse a través de demás estructuras cerebrales llegando así a vías tálamo-corticales en donde las espigas van a convertirse en SWD (Mereen, Luijtelaar, Lopes da Silva & Coenen, 2005).

El mecanismo de propagación de las SWD es generado a partir de constantes hiperpolarizaciones en el NRT hacia las vías tálamo-corticales, provocando en estos disparos fásicos de IPSPs que van a prevenir la transferencia de disparos tipo ráfaga hacia la Cx (Steriade, 2005).

## 2.4 Mecanismos GABAérgicos en el NRT

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC, el cual es sintetizado por medio de la descarboxilación del ácido glutámico y posteriormente es liberado a través de canales dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  hacia el espacio extracelular donde de acuerdo a sus características será capturado por un receptor específico. Hasta ahora se conocen tres tipos de receptores diferentes,  $\text{GABA}_A$ ,  $\text{GABA}_B$  y  $\text{GABA}_C$  los cuales de acuerdo con sus características biológicas son divididos en ionotrópicos y metabotrópicos.

Los receptores de tipo  $\text{GABA}_A$  y  $\text{GABA}_C$  son ionotrópicos, se conforman por unidades pentaméricas las cuales al unirse dan forma a un canal dependiente de iones de  $\text{Cl}^-$ . Por otro lado, los receptores de tipo metabotrópico son aquellos receptores transmembranales acoplados a las proteínas G y sistemas de segundos mensajeros que modulan la actividad de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  (Lagrange & Grier, 2012; Medel et al., 2011).

Estos tipos de receptores están conformados por diferentes combinaciones de subunidades que incluyen  $\alpha$  1-6,  $\beta$  1-3,  $\gamma$  1-3,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$ , y  $\rho$  1-3. Esta variabilidad en los grupos de subunidades es considerada como una particularidad de los receptores a lo largo de regiones específicas del cerebro (Nguyen & Nicoli, 2018). De igual manera se ha reportado por medio de investigaciones genéticas, anomalías sobre diferentes subunidades que producen un cambio en el umbral convulsivo, provocando una propensión a las crisis epilépticas (Izquierdo, 2005). Además de genes implicados con la farmacorresistencia al tratamiento antiepiléptico (Alonso, Bramasco & Moreno, 2004).

Uno de los mecanismos causantes de los trastornos epilépticos es la disfunción en los neurotransmisores GABAérgicos ya que no ejercen un suficiente control sobre la excitabilidad de las neuronas, permitiendo su propagación a través de otras estructuras corticales y límbicas.

Una investigación realizada por Aker et al. (2001) en la que se aplicó microinyecciones de bicuculina (BC) que es un antagonista del receptor GABA<sub>A</sub> y muscimol (MSC), un agonista de los receptores GABA<sub>A</sub>, sobre el NRT en ratas GAERS, se observaron que la BC aumentaba la duración de las SWD mientras que la microinyección de MSC disminuía la aparición de las mismas.

Años más tarde el mismo grupo de investigadores reportó una diferencia en la propagación de SWD de acuerdo con la anatomía del NRT; dentro del plano caudal observaron que el uso de BC incrementaba la aparición de SWD debido posiblemente a un incremento en la sincronización de la actividad oscilatoria talámico-sensorial. Mientras que dentro del plano rostral se observó lo contrario, lo cual sugiere que puede estar relacionado con los núcleos talámico-motores (Aker et al., 2006).

En otra investigación realizada con picrotoxina (PTX), otro antagonista del receptor GABA<sub>A</sub> el cual fue inyectada vía intravenosa se pudo observar cambios en el EEG, específicamente sobre las frecuencias Theta (4.5-8Hz) y Gamma (30-100Hz), esta última se ha relacionado con los eventos ictales y la sincronización de la actividad epileptiforme. Otro dato relevante también reportado fue un aumento de las frecuencias Gamma Theta sobre el NRT y la Cx. Esto sugiere que las oscilaciones Gamma específicamente las frecuencias de 30-45Hz registradas en neuronas GABAérgicas de la capa IV y que proyectan a la capa V son capaces de generar oscilaciones sincrónicas (Mackenzie et al., 2002).

Por lo tanto, se puede concluir que el uso de antagonistas GABA<sub>A</sub> induce actividad convulsiva, corroborando que la disminución inhibitoria es un factor importante en la generación y propagación de la actividad epiléptica ya que la actividad excitatoria se ve potencializada.

Experimentos similares, pero ahora realizados con baclofen (BCF) un agonista GABA<sub>B</sub> y CGP 35348 un antagonista GABA<sub>B</sub> administrados por vía sistémica, mostraron entre sus resultados un incremento en las SWD en el grupo con BCF y una abrupta disminución de las mismas en el grupo al que se le administró CGP 35348. En este mismo experimento se reportó que la aplicación de BCF dentro del NRT aumenta la aparición de SWD, la cual podría ser ocasionada de acuerdo con los autores a un aumento dentro de los disparos ráfaga, que serán los encargados de sincronizar la actividad oscilatoria. Mientras que de manera contraria la aplicación del antagonista mostró una disminución de las SWD posiblemente debida a una supresión en las descargas burts (Liu, Vergnes, Depaulis & Marescaux 1992).

Aunado a esto un análisis de distintas frecuencias que componen al EGG realizado por Marrosu et al. (2006) en el cual se aplicó vía peritoneal BCF y SCH 50911 en ratones genéticamente modificados (DBA/2J), describió un incremento en la frecuencia Beta (8.5-12Hz) y una disminución para la frecuencia Gamma en el grupo BCF; situación contraria sucedió con la administración del antagonista GABA<sub>B</sub> CH 50911. Lo que sugiere que el uso de antagonistas GABA<sub>B</sub> en modelos de ausencia puede mejorar las tareas cognitivas.

Los receptores GABA<sub>B</sub> de las neuronas del NRT podrían estar evocando IPSPs intrareticulares provocando así un incremento en las conductancias de K<sup>+</sup>, teniendo como resultado un aumento en las descargas tipo ráfaga, con lo que se podría hipotetizar un atributo sincrónico en los receptores GABA<sub>B</sub> dentro del NRT (Ulrich & Huguenard, 1996).

### 3. Estimulación Cerebral Profunda

Actualmente la estimulación cerebral profunda (DBS, *Deep Brain Stimulation* por sus siglas en inglés) es utilizada como un tratamiento para el control de algunos trastornos del movimiento. Sin embargo, su aplicación clínica y experimental también ha demostrado resultados positivos sobre el tratamiento de algunos otros trastornos como la epilepsia refractaria al tratamiento farmacológico y en pacientes que no son candidatos a una resección quirúrgica del foco epiléptico (Goodman, Berger & Tcheng, 2005; Chiken & Nambu 2016).

Este tratamiento consiste en la implantación de uno o más electrodos dentro de alguna estructura específica del cerebro; enviando pulsos eléctricos que intervienen dentro de la actividad cerebral normal y anormal. Sin embargo, a pesar de los beneficios clínicos, la adaptabilidad y su baja tasa de morbilidad aún se desconocen los mecanismos de acción con los que opera (Benabid et al., 2005; Ghotbedin, 2013).

Actualmente existen tres hipótesis que tratan de explicar cómo trabaja la DBS, la primera de ellas es la hipótesis inhibitoria, la cual considera que la descarga eléctrica emitida por el electrodo va a provocar depresiones sinápticas, disminución en los neurotransmisores, una activación de las aferencias inhibitorias y un bloqueo de la despolarización neuronal (Chiken & Nambu 2016; Montgomery & Gale, 2008).

La segunda hipótesis es la excitatoria, que hace referencia a que la estimulación eléctrica va a inducir una despolarización neuronal a través de una estimulación catódica con la cual desencadenará una apertura de los canales de Na<sup>+</sup> dependientes de voltaje. Este efecto excitatorio ha sido utilizado como una herramienta para la exploración y el mapeo cerebral,

específicamente es utilizada para la identificación de estructuras candidatas a cirugía (Benabid et al., 2005).

Por último, la hipótesis de la disrupción menciona que la DBS, así como las lesiones corticales, van a interrumpir el flujo normal o anormal de información dentro de las redes neuronales. Sin embargo, para poder aplicar este tratamiento a nivel clínico o experimental se deben de tener conocimientos previos acerca de los parámetros de estimulación seleccionados, el tejido donde se llevará a cabo la estimulación, la posición del electrodo, su geometría y potencia, así como la frecuencia y el tiempo de estimulación. Ya que la variabilidad de estos parámetros podría cambiar los resultados producidos por la estimulación (Kuncell & Grill, 2004).

De acuerdo con estos datos y la evidencia experimental los parámetros utilizados en la DBS han sido divididos en dos, los de estimulación a altas frecuencias (*HFS High Frequency Stimulation* por sus siglas en inglés) y los de estimulación a bajas frecuencias (*LFS Low Frequency Stimulation* por sus siglas en inglés). La HFS a pesar de ser el parámetro mayormente utilizado dentro de las investigaciones experimentales aún se desconoce su efectividad, pero se ha sugerido que su efecto es similar al de una lesión, la cual provoca que los núcleos estimulados interrumpan su función por medio de un bloqueo en la despolarización o debido a una activación de las células inhibitorias (Goodman, Berger & Tchong 2005).

Otro mecanismo de acción reportado por Benabid et al., (2005) sobre la HFS fue el aumento de la actividad neuronal posterior a la estimulación, así como una inhibición directa por medio de la activación de terminales nerviosas principalmente GABAérgicas y por un bloqueo en los canales iónicos dependientes de voltaje. Una de las investigaciones que apoya estos datos fue realizada por Beurrier, Bioulac, Audin & Hammond (2000) sobre el núcleo subtalámico por medio de la técnica de patch clamp en donde reportaron un



bloqueo de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  y las corrientes de  $\text{Na}^+$  sugiriendo que el efecto de la DBS a HFS consiste en interrumpir su transmisión sináptica.

Investigaciones realizadas con DBS-LFS han demostrado una larga inhibición en la actividad epileptiforme inducida por kindling amigdalino previniendo el desarrollo de las crisis epilépticas (Shahpari, Mirnajafi-Zadeh, Firoozabadi & Yadollahpour, 2012). Así como un aumento dentro de las frecuencias delta (0.1-4HZ) que son oscilaciones con características antiepilepticas dentro de la misma estructura (Xu et al., 2013).

Algunos otros cambios que se han reportado por la DBS-LFS a nivel celular son: la acumulación de adenosina que es un neuromodulador que participa en la transmisión sináptica inhibitoria disminuyendo la actividad neuronal excitatoria y cambios dentro de los sitios de unión del receptor (Ghotbedin, 2013; Jalilifar, Yadollahpour, Moazedi & Ghotbeddin, 2017). De acuerdo con la literatura revisada, la DBS a LFS y HFS tienen efectos antiepileptogénicos, sin embargo, los parámetros de la DBS-LFS parecen tener beneficios diferentes ya que requiere del uso de corrientes bajas que podrían dañar con menor intensidad los tejidos cerebrales minimizando los efectos secundarios.

### **3.1 Estimulación cerebral profunda en el núcleo reticular del tálamo**

El NRT es una estructura compuesta por células GABAérgicas que participa en la sincronización eléctrica del circuito cortico-tálamo-cortical, pero a pesar de esto, es escasa la información acerca de su papel dentro de la actividad epileptiforme y sus propiedades anticonvulsivas.

Una investigación realizada sobre la aplicación de la DBS en el NRT reportó un efecto contrarrestante en la aparición de CGTC dentro de un modelo de kindling hipocampal (Nanobashvill et al., 2003). Por otra parte, en una

investigación realizada por Pantoja-Jiménez et al., (2013) reportaron que la DBS a HFS incrementa la latencia de aparición de las SWD y las CGTC.

En otra investigación realizada por Magdaleno-Madrigal et al., (2019) en la cual se contrastó las diferencias que provocaba la DBS a HFS y LFS sobre el NRT dentro de un modelo convulsivo de PTZ; los resultados mostraron que la aplicación de la HFS antes de la inyección de PTZ generaba un efecto anticonvulsivo pero las oscilaciones dentro de las frecuencias Delta se veían reducidas, efecto contrario sucedía con la LFS; con lo que concluyen que el efecto de la HFS podría estar desincronizando la actividad EEG mientras que el efecto de la LFS sería el provocar depresiones a largo plazo sobre la actividad neuronal.

#### **4. Justificación**

La epilepsia es un desorden neurológico que de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) afecta a 50 millones de personas alrededor del mundo, de los cuales se estima que aproximadamente una tercera parte de estas personas no responden efectivamente al tratamiento farmacológico (Cruz-Cruz, 2017; Fisher et al., 2017).

Una de las alternativas para este tipo de pacientes es la cirugía de la zona epiléptica, sin embargo, no todos los pacientes son candidatos a este procedimiento. Por eso es necesario el uso de otro tipo de tratamientos que puedan ser funcionales para este resto de la población. La DBS es un tratamiento usualmente utilizado que ha demostrado ser una técnica segura, adaptable y con resultados positivos sobre el tratamiento de la epilepsia refractaria (Goodman, Berger & Tcheng, 2005).

Una de las estructuras implicadas en la sincronización de la actividad neuronal es el NRT, el cual se compone en su mayoría por células

GABAérgicas y que de acuerdo con la revisión de la literatura participan en la generación de la actividad epileptiforme (Steriade, 2005; Pinault, 2004).

Sin embargo, existen pocas investigaciones acerca de qué tipo de receptores GABAérgicos pueden estar actuando dentro del núcleo reticular del tálamo y los mecanismos de acción que estos puedan ejercer con la aplicación de la DBS a bajas y altas frecuencias con respecto al tiempo y a su participación dentro de la actividad epileptiforme y su posible estrategia terapéutica.

## **5. Objetivo**

Analizar los cambios conductuales y electroencefalográficos inducidos por la estimulación eléctrica y química del NRT en un modelo experimental de epilepsia.

### **5.1 Objetivos específicos**

1. Estudiar la gravedad de las CGTC de acuerdo con la escala de Lüttjohann.
2. Analizar el número, duración y latencia de aparición de la primera CGTC.
3. Analizar el número de CGTC así como el intervalo entre crisis.
4. Analizar la frecuencia de espigas en el periodo ictal.
5. Analizar el número de descargas espiga-onda provocados por el PTZ.
6. Analizar cambios en la actividad electrográfica en el dominio de frecuencia.

7. Analizar cambios en la actividad electrográfica en el dominio del tiempo.
8. Analizar la densidad espectral de la actividad EEG durante el efecto de los agonistas y antagonistas GABAérgicos en el NRT.
9. Analizar la densidad espectral de la actividad EEG durante el efecto de la DBS-LFS concomitante a los agonistas y antagonistas GABAérgicos en el NRT.

## 6. Hipótesis

La sinergia de la DBS-LFS y la estimulación química en el NRT favorecerán los efectos protectores contra la aparición de CGTC.

## 7. Variables Independientes

**Aplicación de agonistas y antagonistas GABAérgicos sobre el NRT:** consiste en la aplicación de agonistas (GABA) y antagonistas (PTX) GABAérgicos por medio de una bomba de micro-infusión dentro del NRT.

**Estimulación eléctrica del NRT:** consiste en la aplicación de pulsos eléctricos en el NRT izquierdo.

Para este experimento se utilizó la LFS con los siguientes parámetros: un tren de 8hz, con 200mA y un ancho de pulso de 0.1ms durante 10 minutos. La DBS-LFS fue aplicada antes de la micro-infusión de cualquier fármaco y se pudo observar el artefacto estimulación en el NRT durante los registros EEG.

**Modelo de PTZ:** consiste en la aplicación vía intraperitoneal de una sola dosis de PTZ (50 mg/kg). Las respuestas conductuales fueron medidas por medio de la escala de Lüttjohann.

## 8. Variables Dependientes

**Cambios EEG en el NRT:** son los cambios dentro de las frecuencias y morfología de las ondas producidos por la aplicación de DBS-LFS y de las dosis de agonistas y antagonistas GABAérgicos en el NRT observados en el registro EEG.

**Crisis generalizadas tónico clónicas:** son crisis convulsivas provocadas por una infusión vía intraperitoneal de PTZ (50 mg/kg). De las cuales se midió:

- *Número de CGTC:* es el conteo de crisis convulsivas aparecidas durante una hora de registro EEG.
- *Latencia:* consiste en el lapso de tiempo que tarda en aparecer la primer CGTC a partir inyección de PTZ.
- *Duración:* es el lapso de tiempo que duran las crisis convulsivas.
- *Intervalo:* es el tiempo entre CGTC.
- *Frecuencia:* es el número de espigas entre el tiempo de las CGTC.
- *Gravedad de la CGTC:* se midió por medio de la escala de Lüttjohann.
- *SWD:* Se tomó en cuenta el número de SWDs que son complejos oscilatorios caracterizados por disparos (Spikes) y silencios neuronales (Waves) que tienen un origen indefinido dentro del circuito cortico-tálamo-cortical.

## **9. Método**

### **9.1 Aparatos**

- Aparato estereotáxico (David Kopf, modelo 14)
- Estación para soldar
- Taladro estereotáxico
- Bomba de micro-infusión
- Cámara de video
- Laptop
- Unidades de aislamiento (GRASS PSIU6)
- Polígrafo GRASS 78 D
- Neuroestimulador (Grass S-88)
- Sistema de adquisición análogo-digital (ADQCH8)

### **9.2 Materiales**

- Instrumental para cirugía
- Acrílico dental (Nic-Tone)
- Solvente
- Cera de hueso
- Electrodo tripolares de acero inoxidable
- Tornillos de acero inoxidable
- Conectores header dobles de 6 puntas
- Trenza de registro

### **9.3 Sustancias**

- Pentilentetrazol
- Relajante muscular (Xilazina)
- Anestésico (Ketamina)
- Antisépticos (Agua oxigenada, alcohol, isodine)
- Jabón quirúrgico

- Buffer de fosfatos
- Paraformaldehído
- Solución salina
- Picrotoxina
- Ácido gamma-amino-butírico (GABA)

## **10. Procedimiento experimental**

### **10.1 Animales experimentales**

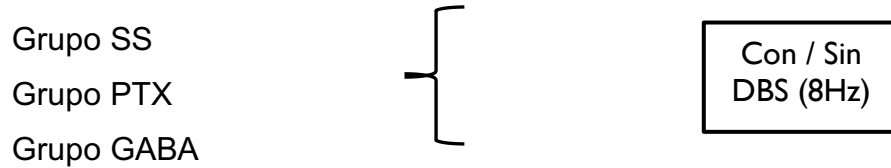
Para esta investigación fueron empleadas 57 ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre los 300-350 gr. con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con temperatura controlada y fueron mantenidas individualmente en cajas de acrílico con agua y alimentación *ad libitum*.

Se utilizaron el menor número de ratas posibles y los mejores cuidados técnicos para inducir el menor dolor posible. Todos los experimentos se realizaron siguiendo las especificaciones para el cuidado y uso de animales de laboratorio indicadas en la norma oficial mexicana SAGARPA NOM-062-ZOO-199 y del Comité de Ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

### **10.2 Grupos y procedimiento experimental**

Todos los grupos fueron implantados con un electrodo tripolar con cánula en el NRT izquierdo y dos cortezas epidurales en la corteza motora para el registro EEG. Después de una semana de recuperación se dio comienzo al procedimiento experimental.

Los roedores fueron divididos en 3 grupos y cada grupo se subdividió en dos tratamientos diferentes:



Esta es la descripción para el procedimiento experimental de los grupos que no recibieron DBS-LFS (Figura 5):

1. **Grupo Solución Salina (SS, n= 10):** posteriormente de haber tomado 10 minutos de línea base se dio inicio a la micro-infusión de 1 $\mu$ l de SS en el NRT izquierdo; 5 minutos después la acción de la sustancia se administró una dosis de PTZ vía intraperitoneal de 50 mg/kg.
2. **Grupo Solución Picrotoxina (PTX, n= 11):** posteriormente de haber tomado 10 minutos de línea base se dio inicio a la micro-infusión de 20 ng/1 $\mu$ l de PTX en el NRT izquierdo; 5 minutos después la acción de la sustancia se administró una dosis de PTZ vía intraperitoneal de 50 mg/kg.
3. **Grupo Solución GABA (GABA, n= 9):** posteriormente de haber tomado 10 minutos de línea base se dio inicio a la micro-infusión de 250 ng/1 $\mu$ l de GABA en el NRT izquierdo; 5 minutos después la acción de la sustancia se administró una dosis de PTZ vía intraperitoneal de 50 mg/kg.

Para los grupos que recibieron DBS, el protocolo experimental fue realizado de la misma manera con la excepción de que se realizó la DBS-LFS previamente a la micro-infusión farmacológica (Figura 6) y los grupos fueron divididos en **SS/DBS-LFS (n= 10)**, **PTX/DBS-LFS (n= 9)** y **GABA/DBS-LFS (n= 8)**.



### **10.3 Implante de electrodos**

Todos los animales fueron anestesiados intramuscularmente con una combinación de ketamina (100 mg/kg) y xilazina (100 mg/kg). Posteriormente se colocaron en un aparato estereotáxico para determinar la posición de los electrodos de registro. A cada rata se le implantó un electrodo tripolar con cánula en el NRT izquierdo de acuerdo con las coordenadas AP, -1,4; L, 1.8; H, -6.2 (Paxinos & Watson 2005). Además de dos electrodos epidurales sobre la corteza motora.

### **10.4 Registro de la actividad EEG y de la DBS en el NRT**

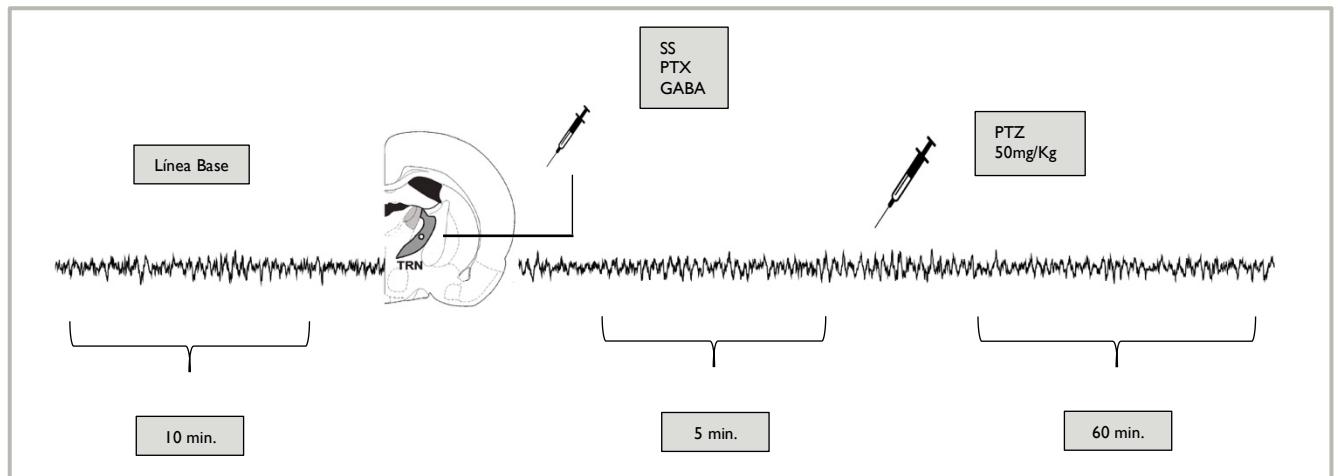
Los registros se llevaron a cabo en el Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Una semana después de la cirugía estereotáxica se registró la actividad EEG y la DBS sobre el NRT. La actividad EEG fue registrada con un polígrafo Grass modelo 78E y un sistema de conversión análogo/digital (ADQCH8) desarrollado en nuestro laboratorio.

La DBS-LFS fue llevada a cabo con un tren monofásico de 8Hz, 200mA y un ancho de pulso de 0.1ms durante 10 minutos utilizando un neuroestimulador (Grass S-88) controlado por un dispositivo automático fabricado en el laboratorio. Los animales fueron colocados en una caja de registro (50 x 27 x 30 cm) en donde se registró un total de 75 minutos para los roedores que no recibieron DBS-LFS que fueron distribuidos de la siguiente manera: una línea base de 10 minutos, una micro-infusión farmacológica dentro del NRT con duración de 1 minuto y 4 minutos de registro, y por último 60 minutos de registro EEG posteriores a la inyección de PTZ (Figura 5).

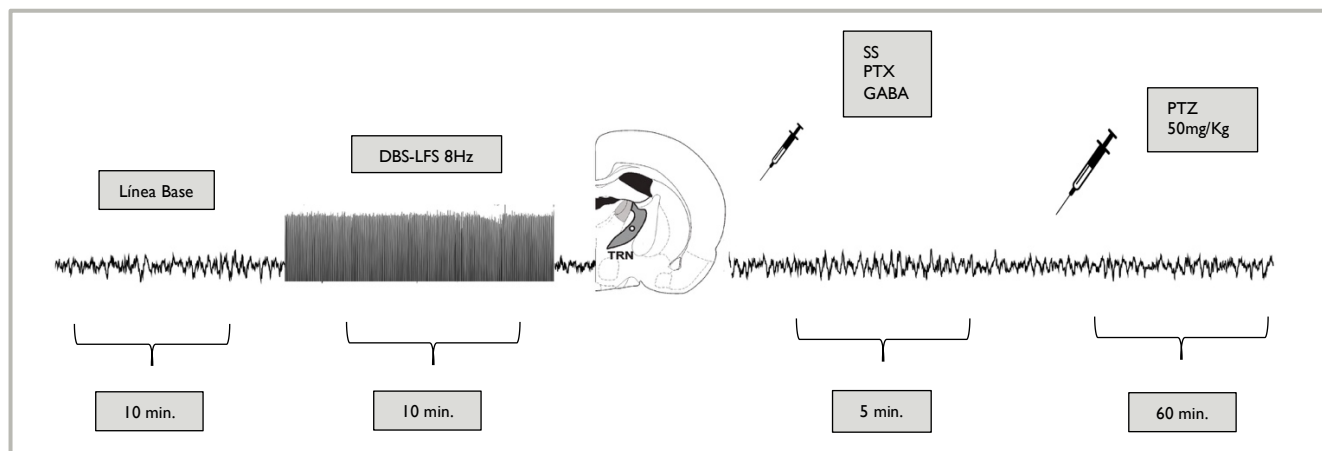
Para los grupos que recibieron DBS-LFS, el tiempo de registro fue de 85 minutos que fueron distribuidos de la siguiente manera: 10 minutos de línea

base, 10 minutos de DBS-LFS, una infusión farmacológica dentro del NRT con duración de 1 minuto y 4 minutos de registro, y por último 60 minutos de registro EEG posteriores a la inyección de PTZ (Figura 6).

Al final del protocolo experimental las ratas fueron decapitadas para extraer el tejido cerebral que posteriormente será analizado.



**Figura 5. Descripción gráfica del procedimiento experimental en los grupos que no recibieron DBS-LFS.** Se registró una línea base con duración de 10 minutos; posteriormente se dio inicio a la micro-infusión del fármaco dentro del NRT y se registró su efecto durante 5 minutos; concluido este tiempo se administró una inyección vía peritoneal de PTZ y se registraron 60 minutos de actividad conductual y electroencefalográfica.



**Figura 6. Descripción gráfica del procedimiento experimental en los grupos que recibieron DBS-LFS.** Se registró una línea base con duración de 10 minutos; posteriormente se dio inicio a los 10 minutos de DBS-LFS; al concluir la estimulación comenzó la micro-infusión del fármaco dentro del NRT y se registró su efecto durante 5 minutos; concluido este tiempo se administró una inyección vía peritoneal de PTZ y se registraron 60 minutos de actividad conductual y electroencefalográfica.

## 10.5 Análisis Espectral

Para el análisis espectral se utilizó el programa ADQ8CH con un muestreo de 500 c/s y los datos recopilados de la densidad espectral realizados por la FFT fueron tomados y procesados con el programa electroanalyzer en las bandas de frecuencia Delta (0-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alfa (8-12 Hz), Beta (12-30 Hz) y Gamma (30-55 Hz). Posteriormente fueron normalizados y promediados para su análisis estadístico.

## 10.6 Análisis Estadístico

Se analizaron el número de CGTC, gravedad, latencia, duración, intervalo y el número de SWD observados conductualmente y en el EEG. Además, se analizaron periodos de un minuto antes, durante la DBS-LFS y después de la micro-infusión farmacológica. Se realizó un ANOVA de muestras independientes para determinar las diferencias entre los grupos que

recibieron micro-infusión farmacológica y DBS-LFS, así como entre los grupos que solo recibieron una micro-infusión farmacológica. Además de una prueba T-student para el análisis entre grupos con la misma condición farmacológica, pero con ausencia y presencia de DBS-LFS. Las diferencias significativas se consideraron para  $p < 0.05$ , los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS versión 16.

## **11. Resultados**

### **11.1 Análisis conductual y electroencefalográfico**

Durante la micro-infusión de fármacos y DBS-LFS sobre el NRT, la conducta que presentaron los animales sometidos a SS y SS/DBS-LFS fueron conductas exploratorias, breves acicalamientos y exploración olfatoria. En los grupos PTX y PTX/DBS-LFS el número de acicalamientos incrementó y estaban acompañados de sacudidas de perro, olfateo, piloerección, levantamiento de extremidades y castaño de los dientes. En los grupos GABA y GABA/DBS-LFS se observaron bostezos y conductas exploratorias acompañadas de detenimientos.

En la conducta observada posteriormente a la aplicación de PTZ se pudo observar un aumento en la gravedad de las CGTC de acuerdo con la escala de Lüttjohann en los grupos PTX y PTX/DBS-LFS con respecto al grupo SS lo cual indica que la aplicación de antagonistas GABAérgicos en el NRT facilita la aparición e incrementa la gravedad de las CGTC. De manera contraria los grupos GABA y GABA/DBS-LFS mostraron una disminución en la gravedad de las CGTC, ya que, se observó que un menor número de animales alcanzaron el estadio cinco y algunos otros solo se mantuvieron en estadio tres (Figura 7 y 8); para el número de CGTC aparecidas también se observó una tendencia en el incremento en los grupos SS/DBS-LFS y

GABA/DBS-LFS comparados con los grupos que no recibieron estimulación (Figura 7 y 8).

En el análisis entre las comparaciones de los grupos que recibieron DBS-LFS y los grupos que no recibieron estimulación se observó un incremento en la duración de las CGTC en el grupo SS/DBS-LFS con respecto al grupo SS ( $p < 0.05$ ) (Figura 9); y en la frecuencia en el número de espigas con respecto al periodo ictal en el grupo PTX/DBS-LFS en comparación con el grupo PTX ( $p < 0.005$ ) (Figura 9).

Sin embargo, al realizar el análisis para muestras independientes entre los grupos que no recibieron estimulación se pudo observar un aumento significativo en la frecuencia de espigas entre el grupo PTX con respecto al grupo GABA ( $p < 0.05$ ) (Figura 10); también se observó una disminución en el número de SWD en el grupo PTX con respecto a los grupos SS ( $p = 0.005$ ) y GABA ( $p < 0.005$ ) (Fig. 11). Y entre los grupos que recibieron estimulación se observó un incremento en el intervalo en el grupo PTX/DBS-LFS con respecto a los grupos SS/DBS-LFS y GABA/DBS-LFS (Figura 12).

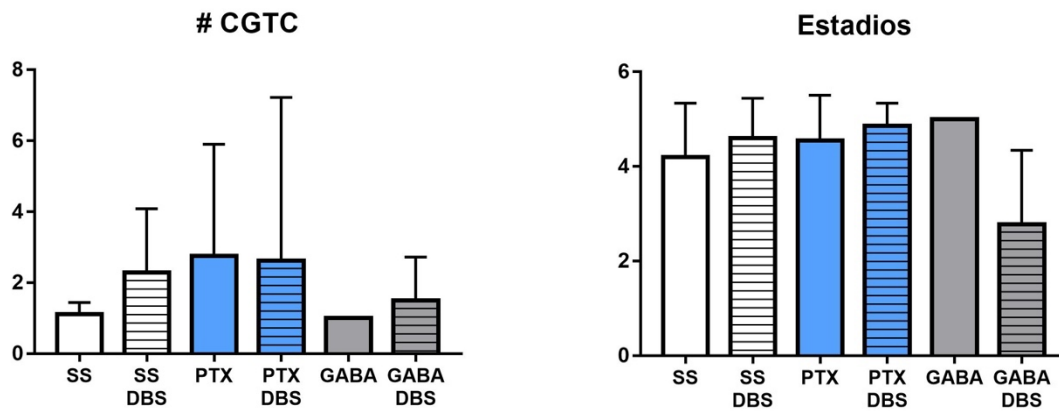
El presente trabajo tuvo como objetivo identificar los cambios conductuales y electroencefalográficos que produce la DBS-LFS concomitante a la aplicación de agonistas y antagonistas GABAérgicos sobre el NRT de ratas en un modelo de CGTC inducidas por PTZ. La aplicación de PTX sobre el NRT mostró un decremento en la aparición de SWD con respecto a los otros grupos, debido a un incremento observado en la gravedad, el número de CGTC y en su intervalo de aparición, al igual que un aumento en la frecuencia de espigas de acuerdo con la duración de las crisis.

Además, se observó un decremento en las frecuencias Beta y Gamma en los grupos que recibieron PTX y GABA. Por otra parte, la DBS incrementó la duración de las CGTC en el grupo SS/DBS-LFS y la frecuencia de espigas en el grupo PTX/DBS LFS. A su vez también mostró una disminución en el

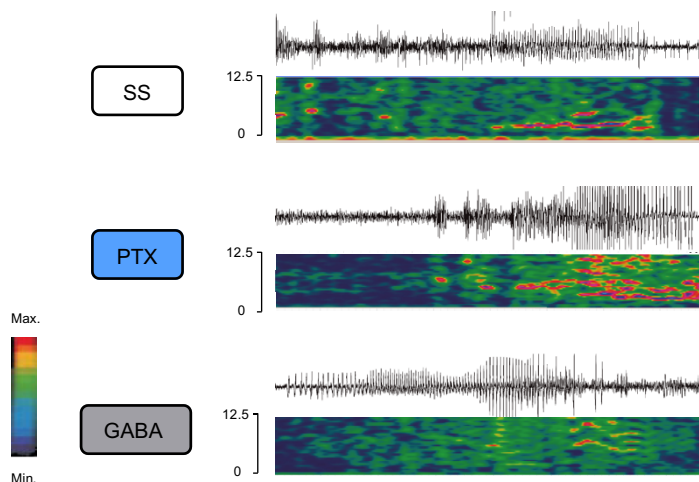
grupo PTX/DBS-LFS con respecto a los demás dentro de las frecuencias Gamma. Esto podría indicar que la DBS-LFS y el bloqueo de las células GABAérgicas por medio de antagonistas GABA en el NRT promueven la propagación de la actividad epileptiforme; de igual manera la disminución de las bandas Beta y Gamma podrían estar relacionadas con este efecto.

En una investigación realizada por Olivéras y Clavel (1994) reportaron que la aplicación de altas dosis de PTX (2-4 $\mu$ l) en el NRT de las ratas generaba conductas que consideraron similares a las del dolor, caracterizadas por sacudidas de perro, intensas corridas, castaño de los dientes, piloerección y rigidez en la cola.

De manera similar, en nuestro experimento se pudieron observar algunas de estas respuestas conductuales como el castaño de dientes, piloerección y sacudidas de perro. Puede ser que la presencia de solo algunas respuestas conductuales observadas en nuestros registros se deba a que la aplicación de nuestra dosis de PTX fue menor. Sin embargo, cuando administramos la inyección de PTZ posteriormente a la micro-infusión de PTX, pudimos observar un incremento sobre la actividad epileptiforme conductual y EEG.

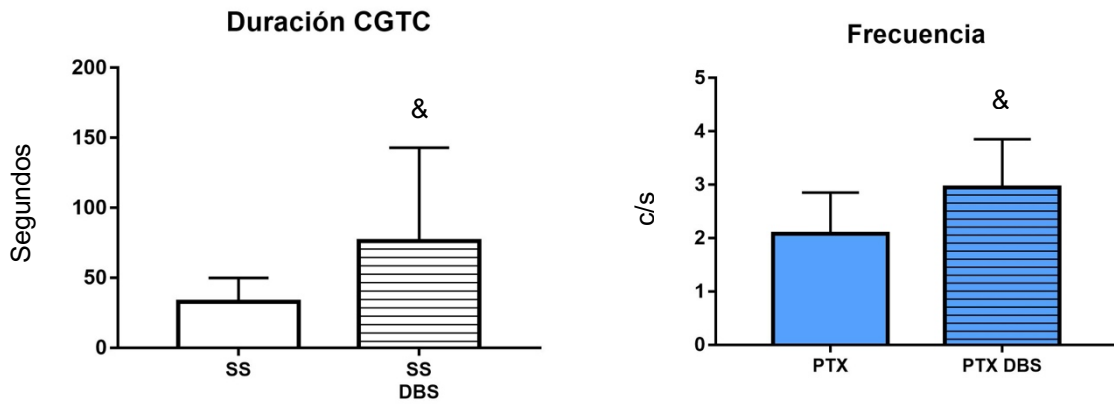


**Figura 7. Promedios del número de CGTC y los estadios conductuales evaluados por medio de la escala de Lüttjohann.** Del lado izquierdo se puede observar un histograma con el promedio del número de CGTC entre los grupos SS, PTX y GABA concomitantes a los grupos que recibieron DBS-LFS. Nótese un aumento en las CGTC en los grupos que recibieron DBS-LFS. Del lado derecho se puede observar un histograma sobre los estadios conductuales de las CGTC aparecidas posteriormente a la aplicación de PTX; nótese un incremento en los grupos PTX, GABA, PTX/DBS-LFS y SS/DBS-LFS así como una disminución del grupo GABA/DBS-LFS con respecto al grupo SS.

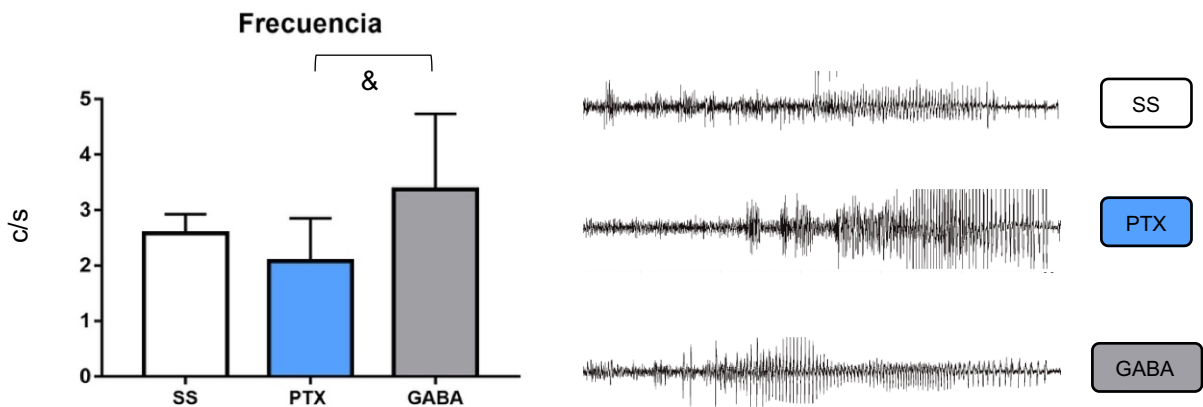


**Figura 8. Trazos representativos del registro EEG y densidad espectral.**

En la parte de arriba en el grupo SS, se aprecia una CGTC vista desde un registro electroencefalográfico y por debajo en color rojo se puede observar un aumento en la densidad espectral. En el grupo PTX se muestra una CGTC con un incremento en la amplitud y número de espigas, así como un aumento en la densidad espectral. En el Grupo GABA el número de espigas se ve disminuido y con un mayor intervalo entre espigas, además de un descenso de la densidad espectral.

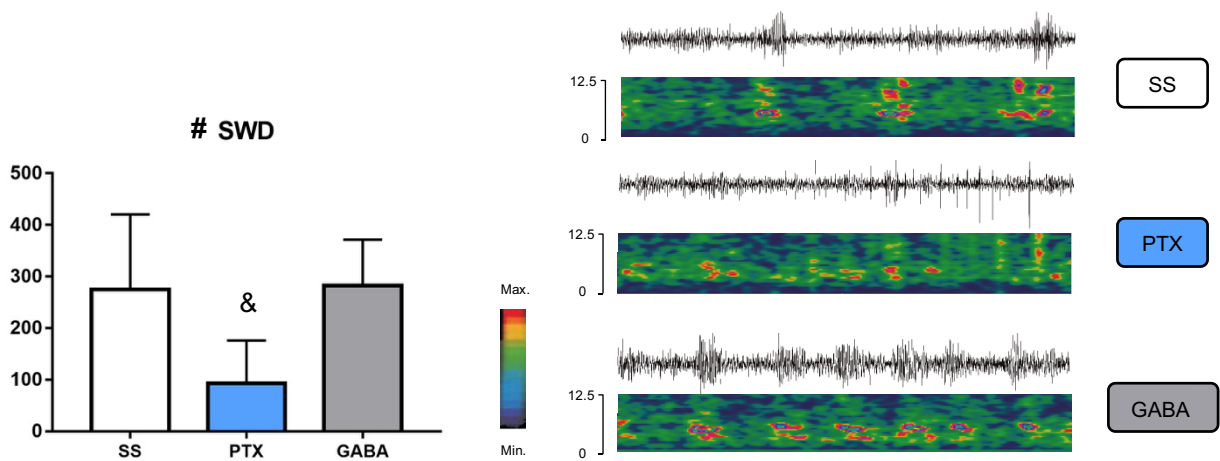


**Figura 9. Comparación entre grupos que recibieron mismo fármaco y diferente tratamiento.** Del lado izquierdo se puede observar un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en la duración de las CGTC en el grupo SS-DBS-LFS con respecto al grupo SS. Del lado derecho se aprecia un incremento significativo ( $p < 0.005$ ) en la frecuencia de espigas durante el periodo ictal en el grupo PTX/DBS-LFS con respecto al grupo PTX.

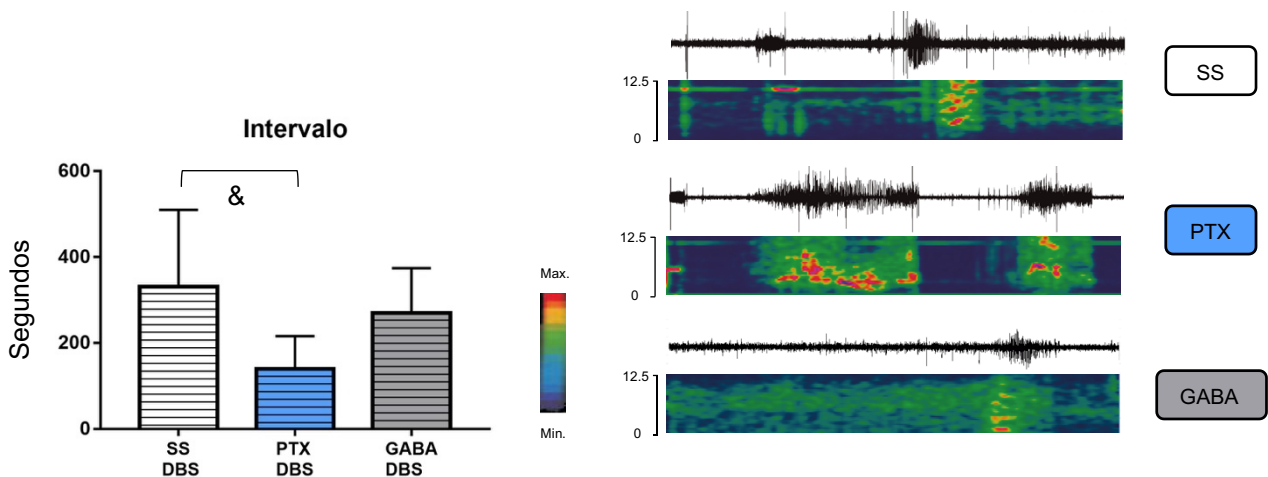


**Figura 10. Histograma y trazos representativos del registro EEG sobre la frecuencia en el número de espigas en una CGTC.** Del lado izquierdo se muestra un histograma que compara el promedio en la frecuencia del número de espigas de una CGTC; se observa un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo GABA con respecto al grupo PTX. Del lado derecho, trazos representativos de 60 segundos del registro EEG; en el grupo SS se puede observar la frecuencia de disparo que tiene una CGTC inducida por PTZ; en el grupo PTX se observa una disminución con respecto a la frecuencia de disparo pero un incremento en su amplitud; en el grupo GABA se puede observar un aumento en la frecuencia de disparo.





**Figura 11. Histograma y trazos representativos del registro EEG y la densidad espectral acerca de las SWD.** Del lado izquierdo, un histograma que compara el promedio de las SWD entre los grupos que no recibieron estimulación en el que se puede observar una disminución significativa en el grupo PTX con respecto a los grupos SS y GABA. Del lado derecho, trazos representativos de 60 segundos acerca de las SWD en los grupos SS, PTX y GABA; nótese la presencia de SWD en el grupo SS y una severa reducción en el número de SWD en el grupo PTX, además de un incremento en el grupo GABA



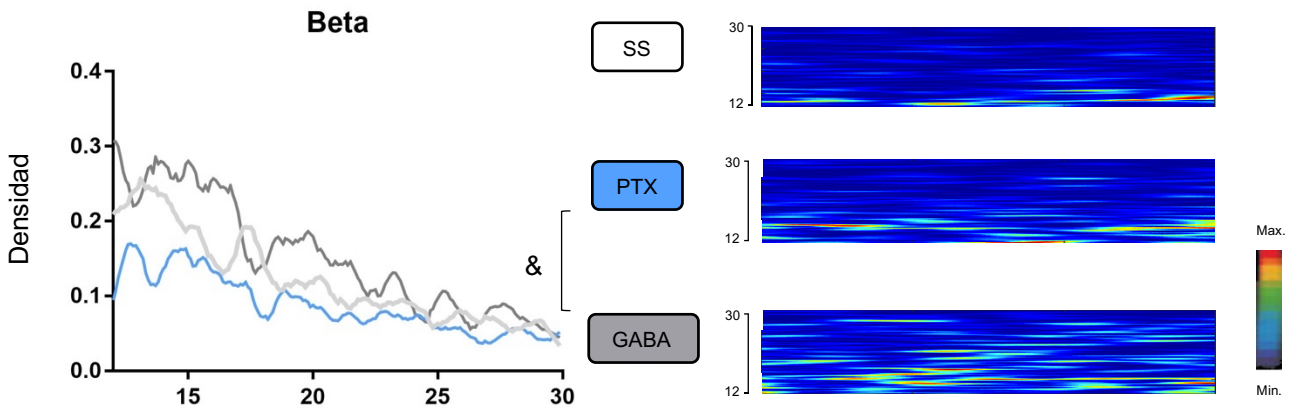
**Figura 12. Histograma y trazos representativos del registro EEG sobre el intervalo de tiempo entre CGTC.** Del lado izquierdo se muestra un histograma que compara el promedio del intervalo de tiempo entre CGTC; se puede observar una disminución significativa ( $p < 0.005$ ) en el grupo PTX con respecto al grupo SS. Del lado derecho, trazos representativos de 90 segundos acerca del intervalo entre CGTC de los grupos SS, PTX y GABA que

recibieron DBS-LFS; en el grupo SS se puede observar la aparición de una CGTC inducida por PTZ; en el grupo PTX se observa la presencia de 2 CGTC y el intervalo de tiempo entre crisis; en el grupo GABA se puede apreciar un incremento en la latencia de aparición de la CGTC.

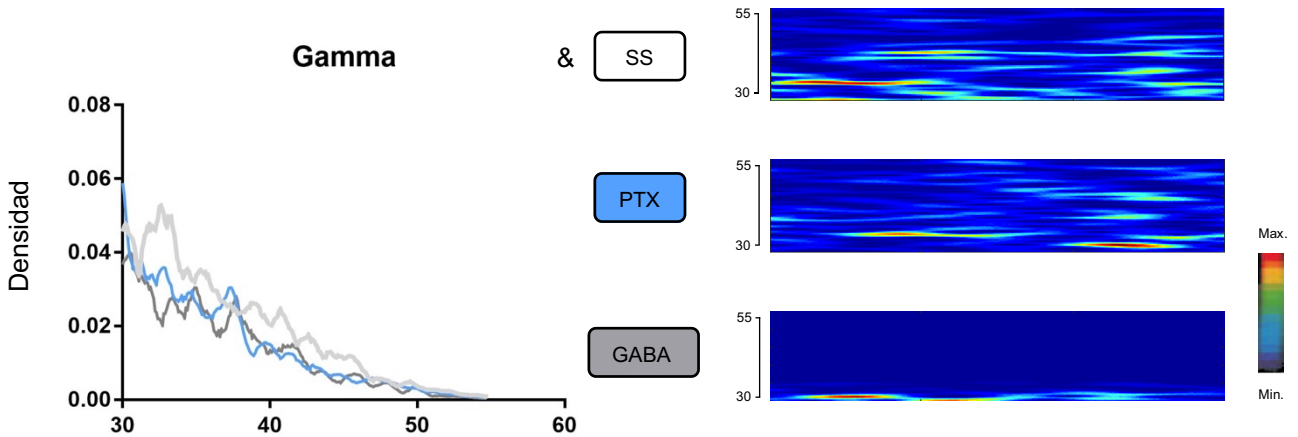
## 11.2 Análisis espectral

El análisis para muestras independientes entre los grupos que no recibieron estimulación mostró una disminución en el grupo PTX en contraste con el grupo GABA ( $p < 0.05$ ) dentro de las frecuencias Beta (Figura 13) y un decremento en la frecuencia Gamma en los grupos PTX ( $p < 0.001$ ) y GABA ( $p < 0.001$ ) con respecto a los grupos SS (Figura 14).

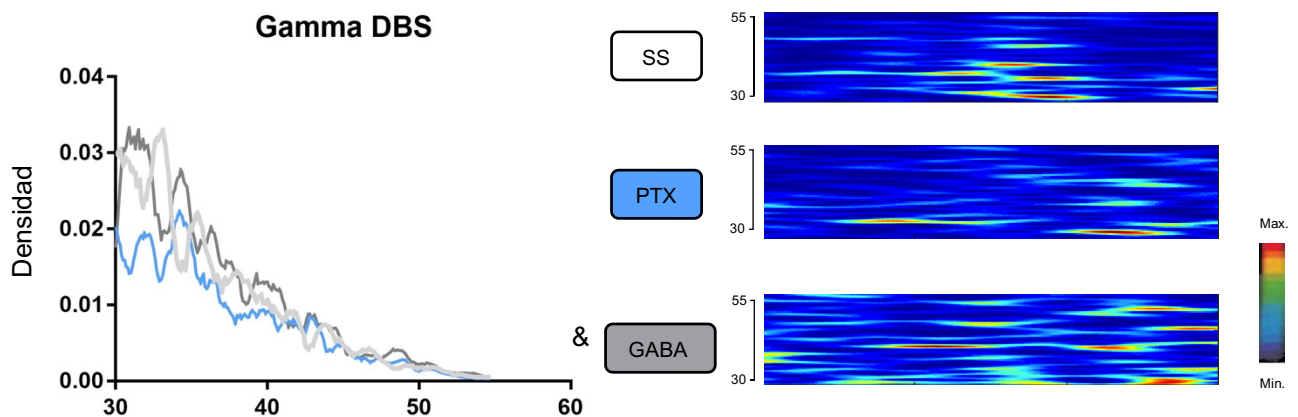
En el análisis realizado entre los grupos que recibieron DBS-LFS se observó una disminución significativa en la frecuencia Gamma en el grupo PTX/DBS-LFS con respecto al grupo SS/DBS-LFS ( $p = 0.001$ ) y al grupo GABA/DBS-LFS ( $p < 0.005$ ) (Figura 15).



**Figura 13. Gráfica y trazos representativos sobre la densidad espectral en la frecuencia Beta (12-30 Hz).** Del lado izquierdo, gráfica que compara el promedio dentro del rango de la frecuencia Beta entre los grupos SS, PTX y GABA; se puede observar una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos PTX y GABA. Del lado derecho, trazos representativos sobre la densidad espectral en la frecuencia Beta, nótese un incremento en la densidad espectral en el grupo GABA con respecto a los grupos SS y PTX.



**Figura 14. Gráfica y trazos representativos sobre la densidad espectral en la frecuencia Gamma (30-55 Hz).** Del lado izquierdo, gráfica que compara el promedio dentro del rango de la frecuencia Gamma entre los grupos SS, PTX y GABA; se puede observar una diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) en el grupo SS con respecto a los grupos PTX y GABA. Del lado derecho, trazos representativos sobre la densidad espectral en la frecuencia Gamma, nótese un incremento en la densidad espectral en el grupo SS con respecto a los grupos PTX y GABA.



**Figura 15. Gráfica y trazos representativos sobre la densidad espectral en la frecuencia Gamma (30-55 Hz).** Del lado izquierdo, gráfica que compara el promedio dentro del rango de la frecuencia Gamma entre los grupos SS/DBS-LFS, PTX/DBS-LFS y GABA/DBS-LFS; se puede observar una diferencia significativa ( $p < 0.005$ ) en el grupo GABA/DBS-LFS con respecto a los grupos SS/DBS-LFS y PTX/DBS-LFS. Del lado derecho, trazos representativos sobre la densidad espectral en la frecuencia Gamma, nótese un

incremento en la densidad espectral en el grupo GABA/DBS-LFS con respecto a los grupos SS/DBS-LFS y PTX/DBS-LFS.

## **Discusión**

Estos resultados podrían indicar que la micro-infusión intrareticular de PTX un antagonista local posiblemente no generen conductas de tipo dolorosas, sino conductas con características pro-convulsivas a menor grado, que se ven potencializadas con la aplicación de PTZ un antagonista sistémico, posiblemente por la similitud en los mecanismos farmacológicos entre estos fármacos. Por otra parte, también se observó una disminución en las frecuencias Beta similar a la reportada por Marrosuu et al., (2006) y un aumento en la frecuencia Gamma dentro del NRT similar al que reportaron Mackenzie et al., (2002) estas frecuencias son características de los eventos ictales y se ha postulado que esta actividad puede contribuir al proceso de sincronización de la actividad epiléptica en diversas estructuras cerebrales.

Se ha demostrado que la aplicación clínica y experimental de la DBS tiene efectos positivos sobre la epilepsia refractaria al tratamiento farmacológico (Goodman, Berger & Tchong, 2005; Chiken & Nambu 2016). En investigaciones realizadas con DBS-LFS han demostrado una inhibición en la actividad epileptiforme inducida por kindling amigdalino (Shahpari, Mirnajafi-Zadeh, Firoozabadi & Yadollahpour, 2012).

Nuestro análisis de comparación sobre la DBS-LFS con respecto al grupo SS demostró un aumento en la frecuencia Alfa similar a los datos reportados por Magdaleno-Madrigal et al., (2019) en el NRT. Además de que también observamos un incremento en la frecuencia de espigas y una disminución en el intervalo de tiempo entre las CGTC en los grupos que recibieron DBS-LFS concomitante a la PTX. Estos resultados podrían indicar que la aplicación de DBS-LFS sobre el NRT podría tener efectos pro-convulsivos.

Estos resultados experimentales sugieren que las propiedades GABAérgicas intrareticulares tienen una participación importante en la génesis y el desarrollo de la actividad epileptiforme la cual se ve favorecida con el uso de DBS-LFS. Sin embargo, se deben de realizar más investigaciones acerca de la participación que podría tener el NRT como una estructura funcional dentro de los tratamientos alternativos.

## **12. Conclusiones**

1. Se pudo observar que la micro-infusión de picrotoxina dentro del núcleo reticular del tálamo potencializa la actividad epileptiforme dentro de un modelo de pentilentetrazol.
2. El incremento observado en el ancho de banda Alfa en los grupos SS y SS/DBS-LFS podrían indicar que la estimulación a bajas frecuencias sobre el núcleo reticular del tálamo tiene efectos pro-convulsivos.
3. Los cambios registrados electroencefalográficamente y conductualmente en el grupo PTX/DBS-LFS podrían reafirmar que la estimulación a baja frecuencia potencializa los efectos pro-convulsivos.

Nuestros resultados sugieren que la DBS modula la actividad neuronal y en un futuro podría ser considerada como una estructura diana debido a sus propiedades GABAérgicas para el tratamiento de personas con epilepsia.

### **13. Consideraciones finales**

La epilepsia es una enfermedad que ha sido estudiada desde la antigüedad y a lo largo de la historia; definida y explicada de diversas maneras por diferentes culturas. Casi al mismo paso y durante esta misma línea del tiempo el humano ha empleado el uso de sus conocimientos para poder controlar y comprender esta enfermedad, y así poder mejorar la calidad de vida de los pacientes.

El empleo de la DBS como tratamiento alternativo para el control de la epilepsia refractaria ha demostrado tener efectos positivos a nivel clínico y experimental, sin embargo, su eficacia va a depender de los parámetros de estimulación y el núcleo al que vaya dirigido (Goodman, Berger & Tchong, 2005; Chiken & Nambu 2016).

El presente estudio aporta evidencias experimentales acerca de los mecanismos inhibitorios del NRT de acuerdo con un tipo de receptor GABAérgico específico y sus cambios en la actividad electroencefalográfica. Además de que propone que el posible mecanismo de la DBS-LFS dentro del NRT podría tener efectos pro-convulsivos al verse aumentada la actividad epileptiforme aunada a la aplicación de antagonistas GABAérgicos.

Lo que sugiere que la función del núcleo reticular del tálamo podría intervenir en el control y la propagación de la actividad epileptiforme dentro del circuito cortico-talámico-cortical, así como su probable participación como núcleo diana en la aplicación de DBS en pacientes con epilepsia refractaria al tratamiento farmacológico. Una limitación que tuvo este proyecto fue la ausencia del análisis histológico, con el cual se hubiera podido tener una evidencia más sobre las alteraciones ejercidas por el efecto de los tratamientos farmacológicos dentro del NRT y los cambios sinérgicos ocasionados por la DBS-LFS a nivel neuronal.

## Referencias

- Aker, R. G., Özkara, Ç., Derwent, A., & Yılmaz Onat, F. (2002). Enhancement of spike and wave discharges by microinjection of bicuculline into the reticular nucleus of rats with absence epilepsy. *Neuroscience Letters*, *322*(2), 71–74. [http://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)00079-4](http://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)00079-4)
- Aker, R. G., Özyurt, H. B., Yananli, H. R., Özgür Çakmak, Y., Özkaynakçı, A. E., Şehirli, Ü., ... Onat, F. Y. (2006). GABA receptor mediated transmission in the thalamic reticular nucleus of rats with genetic absence epilepsy shows regional differences: Functional implications. *Brain Research*, *1111*(1), 213–221. <http://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.06.118>
- Bazhenov, M., Timofeev, I., Steriade, M., & Sejnowski, T. (2017). Spiking-Bursting Activity in the Thalamic Reticular Nucleus Initiates Sequences of Spindle Oscillations in Thalamic Networks. *Journal of Neurophysiology*, *84*(2), 1076–1087. <http://doi.org/10.1152/jn.2000.84.2.1076>
- Benabid, A.-L., Wallace, B., Mitrofanis, J., Xia, R., Piallat, B., Chabardes, S., & Berger, F. (2005). A putative generalized model of the effects and mechanism of action of high frequency electrical stimulation of the central nervous system. *Acta Neurologica Belgica*, *105*(3), 149–57. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16255153>
- Beurrier, C., Bioulac, B., Audin, J., & Hammond, C. (2017). High-Frequency Stimulation Produces a Transient Blockade of Voltage-Gated Currents in Subthalamic Neurons. *Journal of Neurophysiology*, *85*(4), 1351–1356. <http://doi.org/10.1152/jn.2001.85.4.1351>
- Cain, S. M., & Snutch, T. P. (2013). Biochimica et Biophysica Acta T-type calcium channels in burst- firing, network synchrony, and epilepsy ☆. *BBA - Biomembranes*, *1828*(7), 1572–1578. <http://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.07.028>

- Chiken, S., & Nambu, A. (2016). Mechanism of Deep Brain Stimulation : Inhibition , Excitation , or Disruption ? <http://doi.org/10.1177/1073858415581986>
- Díaz, R. A. S. (2008). Conceptos básicos de la epilepsia infantil. *Neurologia Suplementos*, 4(3), 30–34.
- Falco-Walter, J. J., Scheffer, I. E., & Fisher, R. S. (2018). The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Research*, 139(July 2017), 73–79. <http://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.11.015>
- Fuentealba, P., & Steriade, M. (2005). The reticular nucleus revisited: Intrinsic and network properties of a thalamic pacemaker. *Progress in Neurobiology*, 75(2), 125–141. <http://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.01.002>
- García García\*, I. G. M. y J. M. G. (2010). Modelos experimentales en epilepsia. *Revue Neurologique*, 25(3), 181–183.
- Ghotbedin, Z., Janahmadi, M., Mirnajafi-Zadeh, J., Behzadi, G., & Semnanian, S. (2013). Electrical low frequency stimulation of the kindling site preserves the electrophysiological properties of the rat hippocampal CA1 pyramidal neurons from the destructive effects of amygdala kindling: The basis for a possible promising epilepsy therapy. *Brain Stimulation*, 6(4), 515–523. <http://doi.org/10.1016/j.brs.2012.11.001>
- Gil-Nagel Rein, A., & Garca Morales, I. (2009). Etiopatogenia y fisiopatología de la epilepsia. *Medicine - Programa de Formaci?N M?Dica Continuada Acreditado*, 9(75), 4806–4813. [http://doi.org/10.1016/s0211-3449\(07\)75452-8](http://doi.org/10.1016/s0211-3449(07)75452-8)
- Goiz-Márquez, G., Chacón, S. C., Ortiz, H. S., & Sumano López, H. (2008). Epilepsia en perros Canine epilepsy. *Vet. Méx*, 39(3), 279–321. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2008/vm083e.pdf>
- Gómez Betancur, L., Vilaplana Domínguez, L., & Sancho Rieger, J. (2015). Treatment of epilepsy. *Medicine (Spain)*, 11(73), 4374–4384. <http://doi.org/10.1016/j.med.2015.02.003>



- Goodman, J. H., Berger, R. E., & Tchong, T. K. (2005). Preemptive low-frequency stimulation decreases the incidence of amygdala-kindled seizures. *Epilepsia*, *46*(1), 1–7. <http://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.03804.x>
- Hogan, R. E., & English, E. A. (2012). Epilepsy and brain function: common ideas of Hughlings-Jackson and Wilder Penfield. *Epilepsy & Behavior: E&B*, *24*(3), 311–313. <http://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.04.124>
- Jalilifar, M., Yadollahpour, A., Moazedi, A. A., & Ghotbeddin, Z. (2017). Low Frequency Electrical Stimulation Either Prior to Or after Rapid Kindling Stimulation Inhibits the Kindling-Induced Epileptogenesis. *BioMed Research International*, *2017*, 1–8. <http://doi.org/10.1155/2017/8623743>
- Kokaia, Z., Bilanishvili, I., Lindvall, O., Chachua, T., Nanobashvili, Z., & Nanobashvili, A. (2003). Suppression of limbic motor seizures by electrical stimulation in thalamic reticular nucleus. *Experimental Neurology*, *181*(2), 224–230. [http://doi.org/10.1016/s0014-4886\(03\)00045-1](http://doi.org/10.1016/s0014-4886(03)00045-1)
- Kuncel, A. M., & Grill, W. M. (2004). Selection of stimulus parameters for deep brain stimulation, *115*, 2431–2441. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.05.031>
- Ladino, L. D., Rizvi, S., & Téllez-Zenteno, J. F. (2018). The Montreal procedure: The legacy of the great Wilder Penfield. *Epilepsy and Behavior*, *83*(69), 151–161. <http://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.04.001>
- Legorreta-Soberanis, J., Flores-Moreno, M., Gallardo-Elías, J., Paredes-Solís, S., Cruz-Cruz, M. del R., & Andersson, N. (2017). Factores asociados a epilepsia en niños en México: un estudio caso-control. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, *74*(5), 334–340. <http://doi.org/10.1016/j.bmhmx.2017.05.006>
- Liu, Z. (1992). Involvement of intrathalamic GABA<sub>B</sub> neurotransmission in the control of absence seizures in the RAT. *Neuroscience*, *48*(1), 87–93.

- Liu, Z., Vergnes, M., I, A. D., & Marescaux, C. (1991). Thalamus in the Genesis and Control of Absence Seizures in the Rat, *545*, 1–7.
- López González, F. J., Rodríguez Osorio, X., Gil-Nagel Rein, A., Carreño Martínez, M., Serratos Fernández, J., Villanueva Haba, V., ... Mercadé Cerdá, J. M. (2015). Epilepsia resistente a fármacos. Concepto y alternativas terapéuticas. *Neurología*, *30*(7), 439–446. <http://doi.org/10.1016/j.nrl.2014.04.012>
- Lüttjohann, A., Fabene, P. F., & van Luijtelaaar, G. (2009). A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiology and Behavior*, *98*(5), 579–586. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.09.005>
- Marrosu, F., Santoni, F., Fa, M., Puligheddu, M., Barberini, L., Genugu, F., Frau, R., Manunta, M. & Mereu G. (2006). Beta and Gamma Rangepowe-Spectrum Correlation with Spiking Discharges in DBA/2J Mice Absence Model: Role of GABA<sub>B</sub> Receptors. *Epilepsia*, *47*(3), 489-494.
- Mackenzie, L., Medvedev, A., Hiscock, J. J., Pope, K. J., & Willoughby, J. O. (2002). Picrotoxin-induced generalised convulsive seizure in rat: Changes in regional distribution and frequency of the power of electroencephalogram rhythms. *Clinical Neurophysiology*, *113*(4), 586–596. [http://doi.org/10.1016/S1388-2457\(02\)00040-8](http://doi.org/10.1016/S1388-2457(02)00040-8)
- Magdaleno-Madrigal, V. M., Contreras-Murillo, G., Valdés-Cruz, A., Martínez-Vargas, D., Martínez, A., Villasana-Salazar, B., & Almazán-Alvarado, S. (2019). Effects of High- and Low-Frequency Stimulation of the Thalamic Reticular Nucleus on Pentylentetrazole-Induced Seizures in Rats. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 2019. <http://doi.org/10.1111/ner.12926>
- Medel Matus, J. S., Cortijo Palacios, L. X., Gasca Pérez, E., SusanTepetlan, P. V., Pérez Palacios, A., & Ramos Morales, F. R. (2011). Receptor GABAA: implicaciones farmacológicas a nivel central. *Archivos de Neurociencias (México, D.F.)*, *16*(1), 40–45. Retrieved from <http://www.archneurocien.org.mx/art.php?id=237>

- Meeren, H., Luijtelaar, G., Lopes da Silva, F. & Coenen, A. (2005). Evolving Concepts on the Pathophysiology of Absence Seizures. *Arch Neurol*, 62, 371-376.
- Montgomery, E. B., & Gale, J. T. (2008). Mechanisms of action of deep brain stimulation (DBS). *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(3), 388–407.  
<http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.06.003>
- Nguyen, Q., & Nicoll, R. A. (2018). The GABA A Receptor b Subunit Is Required for Inhibitory Transmission Report The GABA A Receptor b Subunit Is Required for Inhibitory Transmission. *Neuron*, 98, 1–8. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.03.046>
- Olivéras, J. L., & Montagne-Clavel, J. (1994). The GABAA receptor antagonist picrotoxin induces a “pain-like” behavior when administered into the thalamic reticular nucleus of the behaving rat: a possible model for “central” pain? *Neuroscience Letters*, 179(1–2), 21–24. [http://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90925-3](http://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90925-3)
- Pantoja-Jiménez, C. R., Magdaleno-Madriral, V. M., Almazán-Alvarado, S., & Fernández-Mas, R. (2014). Anti-epileptogenic Effect of High-frequency Stimulation in the Thalamic Reticular Nucleus on PTZ-induced Seizures. *Brain Stimulation*, 7(4), 587–594. <http://doi.org/10.1016/j.brs.2014.03.012>
- Pinault, D. (2004). *The thalamic reticular nucleus: Structure, function and concept*. *Brain Research Reviews* (Vol. 46). <http://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.04.008>
- Ramos-Morales, J. Correa-Basurto, M. S.-V., , Acosta-Hernández, E., Gasca-Pérez, M., & A. Pérez-Palacios, J. T.-F. (2012). Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante. *Neurociencia*, 17(1), 45–48.
- Reif, P. S., Strzelczyk, A., & Rosenow, F. (2016). The history of invasive EEG evaluation in epilepsy patients. *Seizure*, 41, 191–195. <http://doi.org/10.1016/j.seizure.2016.04.006>
- Robert S. Fisher, J. Helen Cross, Jacqueline A. French, N. H., & Edouard Hirsch, Floor E. Jansen, Lieven Lagae, Solomon L. Moshe, Jukka Peltola, Eliane Roulet Perez, Ingrid E.

- Scheffer, and S. M. Z. (2017). Clasificación operacional de los tipos de crisis por la Liga Internacional contra la Epilepsia: Documento - Posición de la Comisión para Clasificación y Terminología de la ILAE, 58(11), 522–530. <http://doi.org/doi:10.1111/epi.13670>
- Shahpari, M., Mirnajafi-Zadeh, J., Seyed, S. M., & Yadollahpour, A. (2012). Effect of low-frequency electrical stimulation parameters on its anticonvulsant action during rapid perforant path kindling in rat. *Epilepsy Research*, 99(1–2), 69–77. <http://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2011.10.023>
- Shorvon, S. (2014). The evolution of epilepsy theory and practice at the National Hospital for the Relief and Cure of Epilepsy, Queen Square between 1860 and 1910. *Epilepsy and Behavior*, 31, 228–242. <http://doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.10.023>
- Steriade, M. (2005). Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends in Neurosciences*, 28(6 SPEC. ISS.), 317–324. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2005.03.007>
- Timofeev, I. (2011). Neuronal plasticity and thalamocortical sleep and waking oscillations. *Progress in Brain Research*, 193, 121–144. <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-53839-0.00009-0>
- Torres, C. V. (2015). Epilepsy. *Medicine (Spain)*, 11(73), 4364–4373. <http://doi.org/10.1016/j.med.2015.02.002>
- Ulrich, D., & Huguenard, J. R. (1996). GABA(B) receptor-mediated responses in GABAergic projection neurones of rat nucleus reticularis thalami in vitro. *Journal of Physiology*, 493(3), 845–854. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021427>
- Vanegas A, Mario A.; Bramasco Avilez, Antonio; Moreno Jimenez, S. (2004). Bioquímica de la epilepsia y modelos experimentales de epilepsia Revista. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 9(3), 15–20.

Watanabe, M., Forsgren, L., Tomson, T., Mathern, G. W., Glynn, M., Engel, J., ... Perucca, E. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475–482. <http://doi.org/10.1111/epi.12550>

Xu, Z., Wang, Y., Jin, M., Yue, J., Xu, C., Ying, X., ... Chen, Z. (2013). Polarity-dependent effect of low-frequency stimulation on amygdaloid kindling in rats. *Brain Stimulation*, 6(2), 190–197. <http://doi.org/10.1016/j.brs.2012.04.010>

Yusta, A. (2005). Crisis convulsivas. Concepto, clasificación y etiología. *Emergencias: Revista de La Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias*, 17(5), 1068–1073.