

# Efecto *kindling* producido por un foco penicilínico amigdalino, en preparaciones crónicas de gato. Estudio polisomnográfico (registros de 23 horas) y de mapeo cerebral

Adrián Martínez\*

Rodrigo Fernández-Mas\*

Edith López\*

Germán Vega\*

Augusto Fernández-Guardiola\* \*\*

## Summary

The effect of repeated "G" sodic penicillin (Pn) microinjections (50-250 UI/1 $\mu$ l) in the temporal lobe amygdala (AM) of free-moving cats was investigated. The following variables were measured: a) the time of appearance of the epileptiform spikes in the injected amygdala, b) the duration and frequency of the afterdischarges, c) the time of propagation to the cerebral cortex of both hemispheres and to the contralateral AM, d) the dose-response relationship for generalized convulsive seizures, e) the topographic distribution of the spike projection to the cerebral cortex, measured by brain topographic mapping technics, f) the progressive behavioral changes evolution analyzed in videotape.

Results show that the microinjection of Pn in the AM is a reliable model of interictal spikes, paroxysms and generalized convulsive seizures, having similar characteristics as those of electrical *kindling*. The Pn repeated microinjection does not produce important changes in the layout and organization of sleep; the only important change was an increase in rapid eye movements sleep (REM) latency. A significant finding in this experiment was that the appearance of PGO spikes in both lateral geniculate bodies always coincide with a depression of the frequency and amplitude of the interictal amygdaline spikes.

**Key words:** Penicillin, *kindling*, sleep, cerebral topographic mapping, amygdala, PGO waves.

## Resumen

Se investigó al efecto de la microinyección repetida de Penicilina G sódica (Pn) en la amígdala del lóbulo temporal (AM) del gato íntegro, libre de movimientos. Se midieron las siguientes variables: a) Tiempo de aparición de las espigas epileptiformes en la amígdala inyectada, b) La duración y frecuencia de la posdescarga, c) El tiempo de la propagación hacia la corteza

cerebral y hacia la AM contralateral, d) Relación dosis-respuesta de las crisis convulsivas generalizadas, e) Distribución topográfica de la proyección de las espigas a la corteza, a través de mapas topográficos cerebrales, y f) Alteraciones conductuales progresivas analizadas mediante video.

Los resultados confirman que la microinyección de Pn en la AM es un modelo confiable de espigas interictales, de paroxismos y crisis generalizadas que tienen características semejantes a las del *kindling* eléctrico "compactado". La microinyección repetida de Pn no produjo cambios importantes en la organización del sueño, a excepción de un aumento en la latencia del primer sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). Un hallazgo significativo fue que la aparición de puntas ponto-geniculoo-occipitales (PGO) del suelo MOR en los cuerpos geniculados laterales, coincidió siempre con depresión y bloqueo de las espigas interictales amigdalinas.

**Palabras clave:** Penicilina, *kindling*, sueño, mapeo topográfico cerebral, amígdala, ondas PGO.

## Introducción

*Kindling* es un modelo animal de epilepsia y plasticidad el cual induce cambios conductuales graduales y aumenta la excitabilidad del sistema nervioso central por la estimulación eléctrica repetida corta, de baja intensidad, o química de varias partes del cerebro (Goddard y col.) (16). A los pocos días con este procedimiento aparecen paroxismos y crisis generalizadas en todos los animales hasta ahora estudiados, incluyendo los primates subhumanos.

La Penicilina induce actividad focal epileptiforme cuando es aplicada en la superficie pial de la corteza cerebral en concentraciones tan bajas como 100 a 5,000 Unidades Internacionales (UI) (Prince) (29). Los cambios subsecuentes en la descarga convulsiva se ha estudiado usando la inyección intracortical de Pn (25 UI) como un agente inductor de *kindling* (Collins) (6). Así, han sido reportados algunos efectos epileptogénicos de la aplicación tópica subcortical de Pn cristalina en pre-

\* Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente

\*\* Facultad de Psicología, UNAM.

Correspondencia: Adrián Martínez Cervantes. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Calzada México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco. 14370, México, D.F. E-mail:adrianmc@imp.edu.mx

Recibido: 20 de julio de 2000.

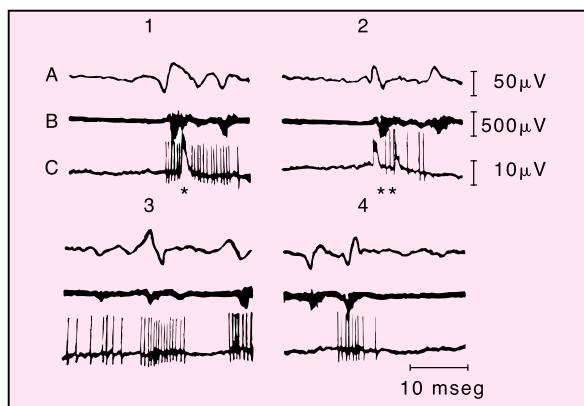
Aceptado: 25 de julio de 2000.

paraciones de gatos agudos (Gloor y col.) (15), crónicos (Fernández-Guardiola y col.) (9 y 10) y (Martínez y col.) (24) específicamente cuando el sitio de aplicaciones es la amígdala del lóbulo temporal. También en "rebanadas" de hipocampo (Schneiderman y col.) (31), o en el cerebelo de gato (Fernández-Guardiola y col.) (11).

Hemos reportado (Fernández-Guardiola y col.) (9 y 10) (Martínez y col.) (24) un efecto semejante al *kindling* provocado por una microinyección única de Pn en el núcleo basolateral de la AM en gatos libres de movimiento. Este foco penicilínico en la AM desarrolla un *kindling* "compactado" del sistema límbico, que presenta los 6 estadios conductuales aproximadamente en 6 horas, (Wada y Sato) (39): Estadio I, sacudida facial unilateral e ipsilateral al sitio de estimulación, asociado con midriasis y reacciones de orientación; Estadio II, sacudida facial bilateral, movimientos masticatorios y retracción del cuello; Estadio III, balanceo de la cabeza con manifestaciones autonómicas prominentes (salivación y pupilas dilatadas); Estadio IV, giro de la cabeza contralateral (adversión) con extensión de la pata anterior contralateral y caminar en círculos; Estadio V, un aumento gradual de la frecuencia y amplitud de las espigas interictales y propagación de las espigas hacia la corteza ipsi y contralateral y áreas subcorticales, mioclonias de los miembros anteriores y posteriores hasta desarrollar crisis convulsiva generalizada (CCG) en el Estadio VI.

En líneas anteriores se ha comentado la propagación de la actividad paroxística inducida por Pn en la amígdala hacia corteza, en otros estudios Salgado-Benítez y col. (30) han demostrado que un "foco" penicilínico (5000 UI) en corteza *gyrus postcruciate* se propaga hacia el lóbulo anterior del cerebelo respondiendo con espigas simples las células de Purkinje (figura 1). Por otro lado se ha reportado el control (acción inhibitoria) que ejerce el cerebelo sobre la actividad epiléptica cortical inducida por cobalto (Dow y col.) (8).

Se han reportado resultados conflictivos en relación con la influencia del *kindling* eléctrico amigdalino sobre



**Figura 1.** A: Se muestra el ECG del "foco" penicilínico inducido en la corteza. B: Registro de la actividad multiunitaria en el foco epiléptico. C: Registro extracelular de las células de Purkinje en la región del *tuber vermis*. Se observa un patrón de activación de espigas simples que se presentó en esta célula (150 ips): por la ocurrencia de espigas complejas (\*, en 1 y 2), no siempre se generaba una respuesta cortical por las descargas de paroxismos en las células de Purkinje (véase 3 y 4).

la organización del sueño. Shouse (33) describió una disminución de el tiempo total de sueño y de MOR; mientras que Calvo y Fernández-Mas (3) no encuentran reducción significativa del sueño durante el *kindling* amigdalino en registros de 23 horas.

El objetivo de este trabajo es observar los cambios inducidos por microinyecciones recurrentes de Pn en la AM, sobre el sueño, la conducta y el EEG del gato no anestesiado y libre de movimiento.

## Método

Los experimentos se llevaron a cabo en 10 gatos adultos machos, con electrodos corticales y subcorticales, crónicamente implantados. La preparación quirúrgica de los animales para la implantación de electrodos y cánula se llevó a cabo bajo anestesia con pentobarbital (33 mg/kg).

En cuatro gatos (PC-1, PC-2, PC-3 y PC-4), se implantaron electrodos paralelos de acero inoxidable en ambas amígdalas dirigidos estereotácticamente según el atlas de Snider y Niemer (35) y electrodos epidurales en cortezas frontales y sensoriomotoras (CxSM).

En tres gatos (PC-5, PC-6 y PC-10), se implantaron para el registro convencional de sueño, electrodos paralelos de acero inoxidable en ambas amígdalas siguiendo las coordenadas estereotácticas del atlas de Snied y Niemer (35).

Tres gatos (PC-7, PC-8 y PC-9), fueron implantados con 16 electrodos de acero inoxidable epiduralmente formando una matriz isométrica (sistema internacional 10-20 modificado, ya que los electrodos del vertex fueron suprimidos). Este arreglo cubre las áreas dorsales y laterales del cerebro, principalmente el *gyrus lateralis* o *marginalis*, los *gyri ectosylviano* y *suprasylviano*, y ambas partes rostrales de los hemisferios, incluyendo las áreas alrededor de *gyrus cruciatus*. Los electrodos posteriores fueron colocados cubriendo la corteza visual primaria, sobre la parte posterior del *gyrus marginalis*. Además de electrodos paralelos de acero inoxidable en ambas amígdalas siguiendo las coordenadas estereotácticas del atlas de Snider y Niemer (35).

Todos los animales tenían una cánula a permanencia (diámetro 20) dirigidas hacia AM-I, para liberar la solución de Pn entre 50 a 250 UI/ml. Al final de los experimentos se verificaba la posición subcortical histológica de los electrodos, usando el procedimiento rápido de Guzmán-Flores y col. (18).

## Procedimiento

Todos los animales tuvieron un periodo de recuperación postoperatorio de 15 días. PC-5, PC-6 y PC-10 tuvieron una semana más de habituación en la que recibieron alimento y agua *ad libitum* en la misma caja usada para registro.

La Pn se inyectó en un volumen de un microlitro (con una microjerิงa Hamilton) disuelta en solución salina, variando la concentración inyectada de 50 a 250 UI.

Se aplicó la Pn (250 UI) intraamigdalina diariamente a las 10:00 horas, a PC-2, PC-3 y PC-4 durante 10

días (PC-1 se descartó por problemas con el socket). La actividad EEG cortical y amigdalina se registró durante 4-6 horas después de la administración de Pn. Los cambios conductuales inducidos por el "foco" de Pn (especialmente con las dosis altas) se grabaron en cintas de video.

### Dosis recurrentes de Pn

Las microinyecciones de Pn se aplicaron diariamente en PC-2, PC-3 y PC-4 y con una semana de intervalo en PC-5 y PC-6. Los animales restantes PC-7, PC-8, PC-9 y PC-10 se inyectaron cada tercer día. Se midió la latencia de la primera crisis, el número de CCGs, la cantidad de SOL I, II y la latencia del primer sueño MOR.

### Estudios de sueño

Se registró el ciclo sueño-vigilia en 23 horas, en situación control y en situación experimental en PC-5, PC-6 y PC-10. PC-5 recibió 12 dosis de Pn (50-250 UI), después de la séptima dosis se registró 5 veces de la dosis 8 a 12. En este animal las microinyecciones fueron aplicadas con una semana de intervalo. PC-6, recibió 6 microinyecciones de Pn (50 a 250 UI) también con una semana de intervalo y en cada inyección se realizó un registro. PC-10 recibió 6 dosis de Pn (200 UI), una cada 72 horas. Este animal solamente se registró en la sexta microinyección de Pn.

El sueño se calificó manualmente analizándose los estadios: Vigilia (V), sueño de ondas lentas I (SOL I), sueño de ondas lentas II (SOL II), y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) siguiendo el criterio de Ursin y Sterman (38). Se calcularon el número total de fases, porcentaje, duración media y latencia. También se evaluaron tiempo total de sueño, acumulación por hora de V, SOL-I, SOL-II y MOR. El análisis numérico y el cálculo de todas las variables de sueño arriba mencionadas se llevó a cabo por medio de un programa de computación winsleep (Calvo y Fernández-Mas) (4).

### Mapeo cerebral

Este análisis se llevó a cabo en PC-7 (dos dosis de Pn 50 y 100 UI); PC-8 (dos dosis de Pn 50 UI); PC-9 (12 dosis de Pn 100 UI). Los mapas cerebrales fueron realizados con un programa compatible con la PC diseñado en nuestro laboratorio: R-BEAM (Fernández-Mas y col.) (12). Los mapas se generaron en el dominio del tiempo y de la frecuencia las 16 señales monopolares analógicas de la matriz isométrica fueron amplificadas usando preamplificadores de EEG idénticos (Grass 7P511K) con un filtro pasa bajos colocado en 3 Hz y un filtro pasa altas cortando a 100 Hz. Usando un filtro "T" analógico para quitar el ruido residual de los 60 Hz de la línea.

Los 16 canales amplificados se conectaron a un convertidor analógico digital de 12 bits, con un filtro de overlap espectral antialiasing en cada entrada analógica. El rango de la muestra fue seleccionada de acuerdo con el criterio de Nyquist.

Las adquisiciones fueron tomadas en diferentes tiempos después de la microinyección de Pn en AM dependiendo de la amplitud y propagación de las espigas. La duración de cada barrido fue de cuatro segundos y éste se grabó en disco duro.

## Resultados

### Primera dosis de Pn

La microinyección en AM produce espigas que aparecen rápidamente en menos de 30 segundos, sin importar la dosis usada. La duración y la propagación de las espigas depende de las dosis. En un inicio la amplitud de las espigas es de 20-50 mV y la frecuencia oscila entre 1-3/seg. La amplitud aumenta progresivamente de 200 a 400 mV y empieza a estabilizarse entre los 10-15 minutos. Al mismo tiempo, los gatos presentan sacudidas faciales ipsilaterales, balanceo de la cabeza y midriasis, correspondiendo a estas conductas la presencia de espigas en la corteza frontal, CxSM, y CGL-I. Cuando se presenta el caminar en círculos y las mioclonias generalizadas, la propagación de las espigas es evidente en las estructuras contralaterales; incluida la AM-D.

Dosis mayores de 100 UI producen crisis EEG y signos conductuales compactados similares a los obtenidos por el *kindling* eléctrico amigdalino hasta alcanzar el estadio VI (4 gatos alcanzaron *status epilepticus* y fue necesario inyectar Diazepam, 1.2 mg/kg IP). La latencia de la CCG se presentó con una gran variabilidad, después de la primera dosis. Con dosis iniciales de 50 UI no se provocaron CCG pero el resto de las primeras dosis (100 a 250 UI) si provocaron CCG en cuatro de las seis microinyecciones (ver cuadro 1).

### Dosis recurrentes de Pn

Se aplicaron ocho dosis de 50 UI en 4 gatos (PC-5, PC-6, PC-7 y PC-8). Observándose en PC-5 una CCG después de la dosis 7 y con 60 minutos de latencia (fue necesario Diazepam 1.2 mg/kg IP).

Las 26 dosis entre 100-200 UI, aplicadas en 5 gatos (PC-5, PC-6, PC-7, PC-9 y PC-10), indujeron 84 CCGs (excepto en PC-6 el cual mostró solamente paroxi-

**CUADRO 1**  
Muestra el número de dosis aplicadas y la cantidad de Penicilina en UI, asimismo el número de crisis convulsivas generalizadas (CCG) provocadas por la Penicilina y por último la latencia de las crisis por la aplicación de la Penicilina.

Dosis (UI)	Número de CCG	Latencia de CCG (min)
8 (50)	1	39.00 6 0.0
16 (100)	72	46.75 6 49.29
2 (150)	2	85.50 6 101.11
8 (200)	18	132.00 6 134.40
33 (250)	86	73.00 6 34.64

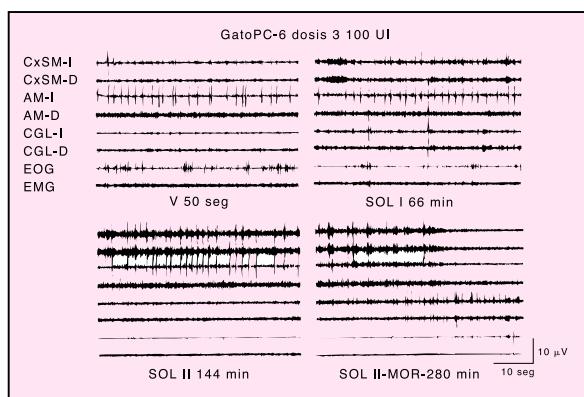
mos focales en AM) con una latencia media de 66 minutos.

La dosis de 250 UI fue microinyectada 33 veces en 5 gatos (PC-2, PC-3, PC-4, PC-5 y PC-6), produciéndose 86 CCGs con una latencia media de 73 minutos.

Las características más prominentes de las CCGs fueron: a) todas fueron precedidas por un aumento de la amplitud y la frecuencia de las espigas en la AM; b) en todos los casos el inicio de la CCG fue en la AM izquierda (estimulada); c) la primera activación cortical que aparece es en la corteza ipsilateral del lóbulo temporal y simultáneamente en las áreas prefrontales ipsilaterales; d) la propagación de las espigas hacia el hemisferio contralateral ocurre alrededor de los 190 seg; en cuanto a la AM contralateral, esta estructura es la última en activarse, pero este momento coincide con la generalización máxima de la crisis; e) la duración media de las CCGs fue de 99.62 ± 51.79 seg; y f) la terminación de las crisis consistía en un abrupto "silencio" eléctrico en todas las estructuras. Sin embargo, en algunas ocasiones y después de varias CCG en el mismo animal, el final de la crisis no fue simultáneo, sólo la AM ipsilateral continuaba descargando por varios segundos y el gato presentaba una conducta pseudoalucinatoria e inmovilidad.

### Registros de 23 horas bajo dosis recurrentes de Pn

En situación control y experimental se obtuvieron 12 registros. Y un resultado persistente de los registros experimentales fue que las descargas de espigas intercríticas amigdalinas inducidas por las Pn se facilitan durante el SOL. Mientras que la aparición de espigas fásicas en ondas lentas (SPOL), precursoras del MOR disminuyeron la frecuencia de las espigas amigdalinas, en el sueño MOR, cuando aparecían las primeras andanadas de PGOs las espigas interictales



**Figura 2.** Se muestra el EEG en vigilia (V), sueño de ondas lentas I (SOL-I), sueño de ondas lentas II (SOL-II) y la transición de SOL II a sueño MOR después de la inyección de penicilina intra-amigdalina (100 UI/1m1). Nótese que la aparición de SPOL en SOL II y de sueño MOR con la actividad PGO concomitante, provoca la disminución y desaparición de la actividad paroxística en la amígdala, así como su propagación cortical. Corteza Sensorio-Motora Izquierda, Derecha: (CxSM-I, D); Amígdala del Lóbulo Temporal, Izquierda, Derecha: (AM, I, D); Cuerpo Geniculado Lateral, Izquierdo, Derecho: (CGL, I, D); Electrooculograma: (EOG); Electromiograma: (EMG).

amigdalinas y corticales disminúan o desaparecen (figura 2).

En los resultados del ciclo sueño-vigilia se observó lo siguiente: a) la vigilia aumentó en el número de fases, b) en el SOL-I aumentó en el número de fases y disminuyó la duración promedio de la fase, c) en el SOL-II aumentó el tiempo total de la fase así como su porcentaje, d) en el sueño MOR aumentó la latencia y disminuyó el número de fases. El efecto de la Pn sobre la organización del sueño se describe en el cuadro 2.

En cuanto a la acumulación horaria de las fases del sueño, en la figura 3 se puede observar que al principio del registro aumenta la latencia MOR, con la consiguiente disminución del tiempo total de MOR en las primeras horas, lo que es compensado por el aumento del MOR en el periodo de oscuridad. Un efecto de habituación sobre el SOL y MOR se encontró en PC-5 y PC-6 después de la cuarta dosis, las latencias fueron similares al inicio en los registros control, a pesar de la intensidad de los paroxismos y crisis.

### Mapas cerebrales

Los mapas cerebrales mostraron en los dominios de la frecuencia y del tiempo (amplitudes) una distribución topográfica de la propagación cortical de las espigas interictales de la AM. Es decir, las frecuencias rápidas tienden a activar las porciones rostrales del hemisferio contralateral, mientras que las lentas se localizan más en las regiones temporales y frontales ipsilaterales. Es interesante notar una diferencia entre frecuencias lentas (alrededor de 6 Hz) y rápidas (más de 12 Hz) en cuanto a la propagación de la posdescarga interictal.

También se observó la distribución topográfica de la inhibición de los paroxismos y espigas interictales, durante la fase MOR, así como la regionalización de la facilitación de estos grafoelementos durante la fase SOL-II (figuras 4 y 5).

La colocación histológica de la cánula en AM-I se muestra en el cuadro 3 (excepto PC-3 que perdió el socket con los electrodos después de 10 microinyecciones de Pn). Este cuadro muestra el número de dosis aplicadas en cada animal.

### Discusión

El efecto epileptogénico de la Pn, por ejemplo en la capa 4 de la corteza estriada del gato, se debe al bloqueo parcial de la inhibición mediada por GABA (Chatt y Ebersole) (5), (Loeb y col.) (22), y esto es debido a que los potenciales sinápticos dependientes de GABA<sub>A</sub> y de GABA<sub>B</sub> y los potenciales intrínsecos Ca<sup>2+</sup> activados por K<sup>+</sup>, participan en la hiperpolarización tardía de la desviación despolarizante paroxística generada por la aplicación de la Pn en las células piramidales (Dichter y Ayala) (7). También se ha involucrado a los receptores al NMDA en la epileptogénesis penicilínica, puesto que sus antagonistas atenúan, por lo menos una porción de las descargas epileptiformes provocadas por penicilina (Watson y Lanthorn) (42). Igualmente parece que la epileptogénesis penicilínica tiene un especial

**CUADRO 2**  
**El efecto de la Pn en AM y sobre la vigilia (V), sueño de ondas lentes I (SOL-I),**  
**sueño de ondas lentes II (SOL-II) y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR)**

Estadio		Número de fases	Tiempo total (min)	Promedio (min)	Porcentaje	Latencia (min)
V	C	76.5 6 19.9	293.0 6 111.4	4.1 6 2.0	21.2 6 8.1	
	P	96.8 <sup>b</sup> 6 27.1	273.7 6 109.9	2.8 6 0.8	19.8 6 7.9	
SOL-I	C	163.2 6 35.0	289.6 6 56.8	1.7 6 0.3	20.9 6 4.1	16.7 6 16.4
	P	197.6 <sup>a</sup> 6 22.8	237.7 6 42.2	1.2 <sup>a</sup> 6 0.2	17.2 <sup>b</sup> 6 3.0	10.7 6 11.3
SOL-II	C	156.5 6 29.8	654.4 6 108.2	4.2 6 0.8	47.3 6 7.7	30.2 6 17.5
	P	162.4 6 17.7	754.2 6 117.5	4.6 6 0.8	54.6 <sup>b</sup> 6 8.5	29.7 6 31.2
MOR	C	41.0 6 14.9	144.7 6 32.1	3.7 6 0.9	10.4 6 2.3	87.9 6 49.4
	P	29.9 <sup>b</sup> 6 7.0	114.4 6 35.5	3.7 6 0.6	8.2 6 2.5	211.2 <sup>a</sup> 6 70.9

(C) Control n=12 registros de sueño, (P) Grupo Experimental 50-250 UI n=12 registros de sueño. <sup>b</sup>=P<0.05; <sup>a</sup>=P<0.01 (Prueba t de Student de dos colas).

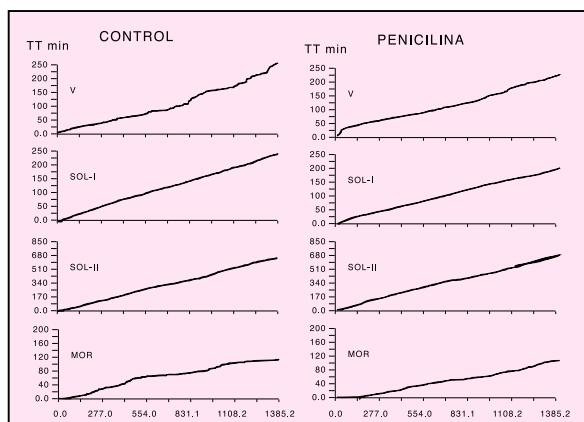
efecto sobre los núcleos glutamatérgicos del neostriado (Furset y Engelsen) (13).

El núcleo basolateral de la amígdala posee abundantes células gabaérgicas (Singh y Malhotra) (34), (McDonald) (26), (Kudo y Yamauchi) (19). Una sola estimulación eléctrica en la amígdala no es capaz de inducir una crisis, como es el caso en la corteza motora. En nuestros gatos, las espigas interictales y las CCG aparecieron siempre después de la aplicación tópica de la Pn, lo que sugiere que es debido a un proceso de inhibición de la inhibición GABAérgica.

El efecto de propagación paroxística que hemos visto en nuestros resultados no se debe a la difusión de la penicilina a través del tejido nervioso. En primer lugar, el volumen inyectado siempre fue de 1ml y por otra parte, los signos de propagación como se ha mencionado son

muy parecidos a los del *kindling* eléctrico, en el cual los procesos de difusión están descartados. Además, se ha demostrado con medidas precisas realizadas en Agar y en la corteza cerebral, que la difusión de la penicilina es apenas de 1mm por hora (Lehmenkühler y col.) (21), (Noebels y Pedley) (28). También es cierto que la actividad paroxística penicilínica puede modificarse desde núcleos y regiones distantes del foco primario mediante diversas maniobras: bloqueo por enfriamiento talámico (Gasteiger y col.) (14), o por estimulación del núcleo caudado (La Grutta y Sabatino) (20). Asimismo las crisis por penicilina sistémica se modifican por el enfriamiento reversible del mesencéfalo (Testa y Gloo) (37).

Finalmente, las proyecciones de la amígdala a la corteza prefrontal contralateral que describimos en este trabajo se han comprobado en los trabajos histológicos de Granato y col. (17) quienes demuestran una pro-

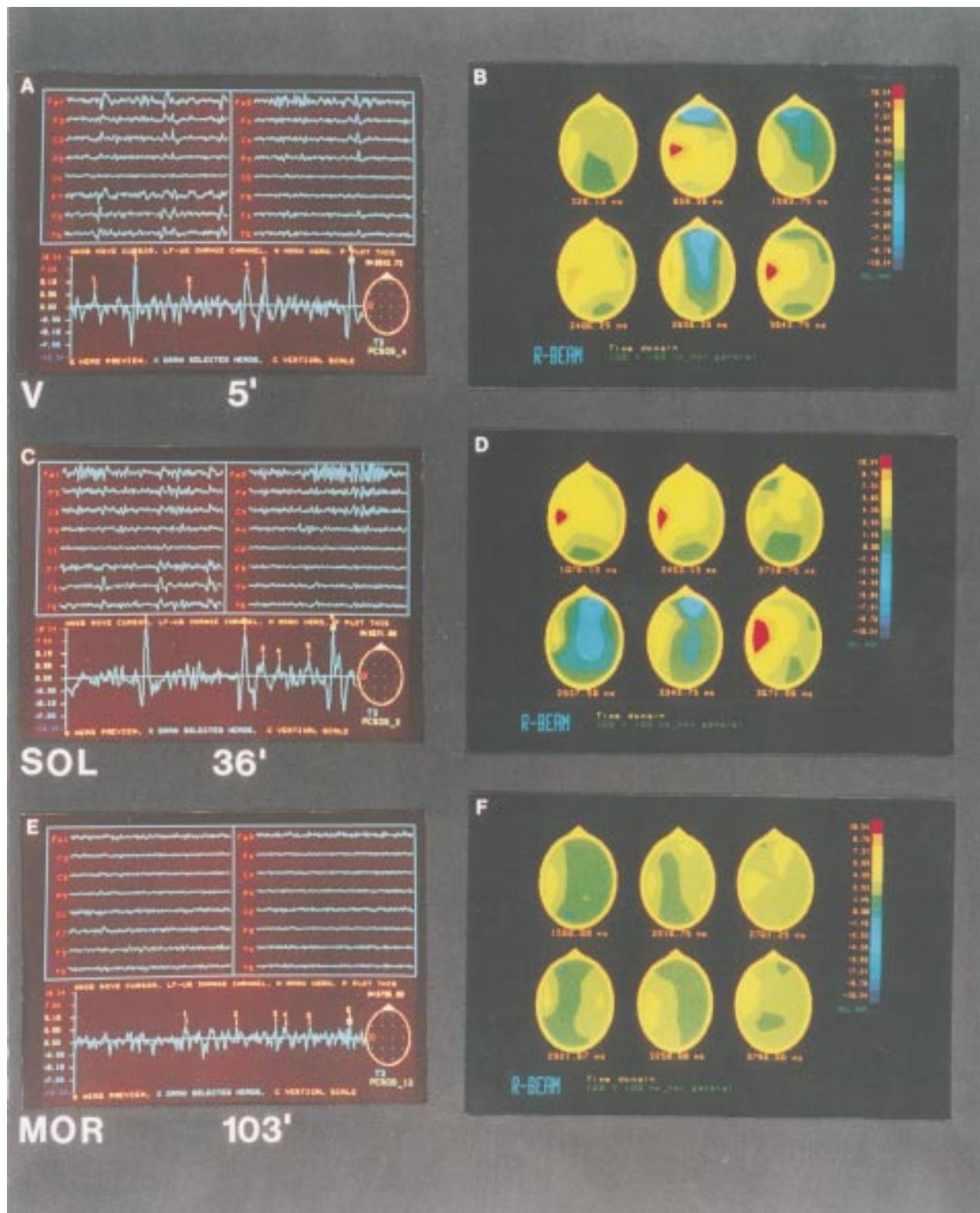


**Figura 3.** Gráfica acumulada promedio del tiempo transcurrido (min), en cada estadio del sueño, durante las 23 horas del registro, en control y después de la inyección de Pn en AM. Nótese el aumento en la latencia de MOR y la consiguiente disminución del tiempo total en las primeras horas. Esta disminución se compensa parcialmente durante el período de oscuridad.

**CUADRO 3**  
**Muestra la colocación histológica\* de la cánula en AM-I**  
**(excepto PC-3 que perdió el socket con los electrodos**  
**después de 10 microinyecciones de Pn). También se**  
**muestra el número de dosis aplicadas en cada animal)**

Gato	Número de inyecciones	AP (mm)	Núcleo inyectado
PC-1	4	11	Lateralis
PC-2	9	11	Lateralis
PC-4	10	9.5	V. Hipocampus
PC-5	10	11	Basolateralis
PC-6	7	9.5	Lateralis
PC-7	2	9.5	Basolateralis
PC-8	2	11.5	Lateralis
PC-9	12	11	Centralis
PC-10	6	10.5	Basalis

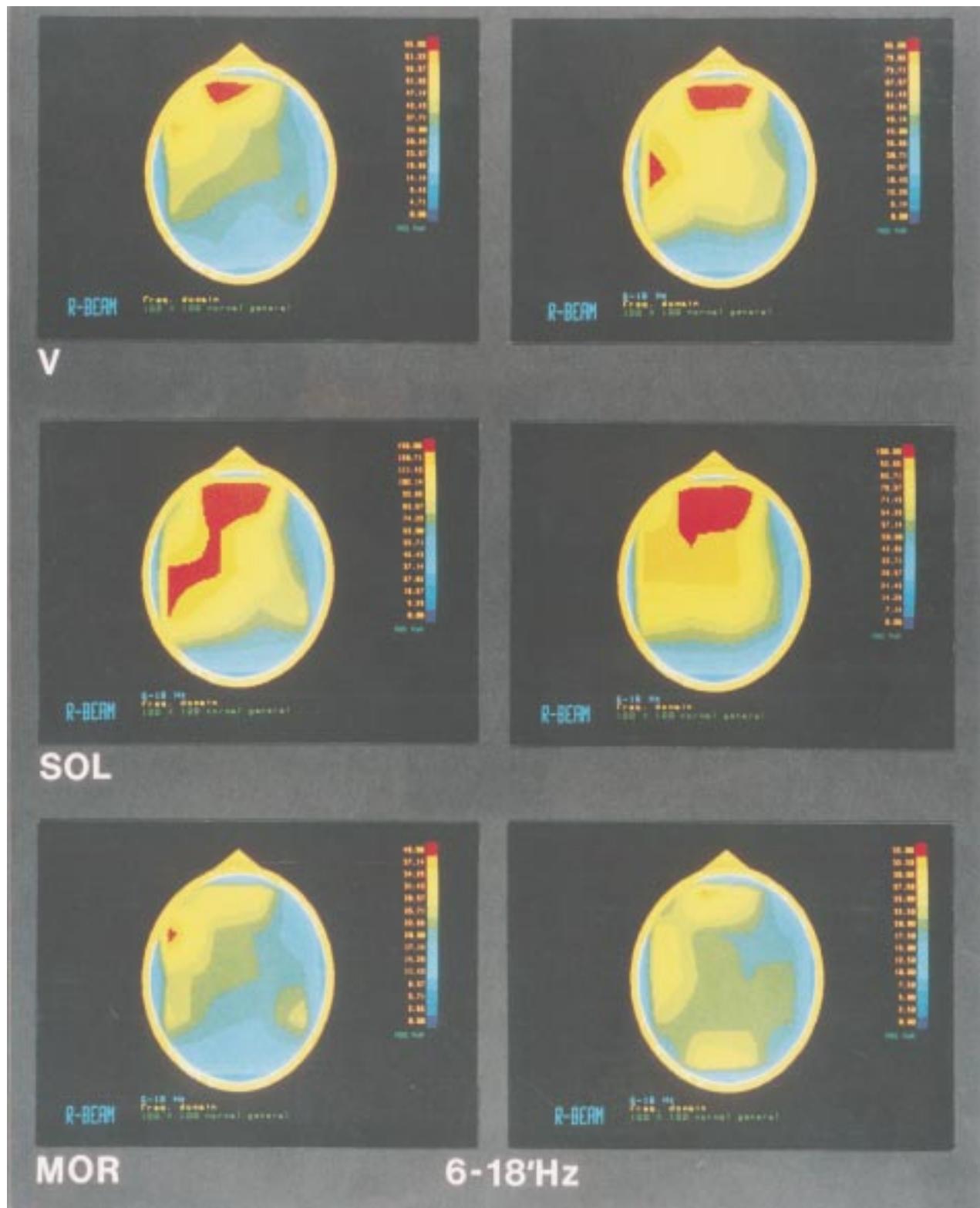
\* Según Snider R S y Niemer W T: A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain, University of Chicago Press, Chicago Il., 1961.



**Figura 4.** Izquierda: Registro de cuatro segundos de duración, de la actividad interictal del electrocorticograma en T3, en los estadios de Vigilia (V) (A), Sueño de Ondas Lentas (SOL) (C) y Sueño de Movimientos Oculares Rápidos (MOR) (E). A derecha: Los mapas cerebrales simultáneos, en V (B), SOL (D) y MOR (F). Los cursos en los trazos ECG corresponden con los mapas cerebrales. El análisis se realizó en el dominio del tiempo (amplitudes). El sueño de ondas lentas facilita la amplitud y la propagación cortical de las espigas, comparada con el MOR las inhibe y focaliza.

yección bihemisférica frontal de la amígdala, probablemente monosináptica. Y en las observaciones clínicas de Berthasius (1) quien al hacer un análisis de correla-

ción de la propagación de las crisis parciales de sintomatología compleja en el hombre, encontró también la propagación bihemisférica anterior.



**Figura 5.** Ilustra ejemplos de mapeo cerebral en el dominio de las frecuencias (6-18 Hz). En esta ocasión los mapas cerebrales superiores corresponden con dos registros del foco penicilíntico en vigilia (V); los dos medios, con el foco Pn en la etapa de Sueño de Ondas Lentas (SOL) y los dos inferiores con el mismo foco en la etapa de Sueño de Movimientos Oculares Rápidos (MOR). Nótese la activación occipital, probablemente debida a la actividad PGO.

La AM del lóbulo temporal no es una estructura motora, por lo tanto los cambios conductuales progresivos sólo pueden explicarse por la propagación de la

posdescarga amigdalina hacia el tallo cerebral y las estructuras rostrales corticales. En el modelo del *kindling* eléctrico tal propagación cortical anterior ha sido

repetidamente demostrada en conejos (Tanaka) (36), gatos (Wada y Sato) (39) y monos (Wada y col.) (40), (Wada y Mizoguchi) (41).

La revisión en cámara lenta de los videos de nuestros animales reveló que los cambios progresivos conductuales después de la administración tópica de Pn en la AM, reflejan claramente una conducta semejante al *kindling* eléctrico, involucrando a las estructuras corticales y subcorticales. La sacudida facial ipsilateral, la midriasis y la retracción de la oreja, probablemente reflejan la participación del hipotálamo (*Shame rage*). La rotación contralateral de la cabeza (*aversión*), coincide con la propagación ipsi y contralateral de la posdescarga hacia la corteza sensorio-motora. El caminar compulsivamente en círculos, algunas veces ipsilateral pero las más de las veces contralateralmente, refleja la participación probable de la sustancia nigra y del núcleo rojo. Los movimientos acelerados de marcha y carrera que preceden a la crisis, o durante ella, revelan la invasión de la *región locomotora mesencefálica* (Shik y col.) (32). Por otra parte, es notable la hipertonía que muestran los animales al final del *kindling* "compactado". Esto revela la inactivación de la formación reticular, origen de los fascículos reticulóespinal y rubroespinal (Magoun y Rhines) (23).

Respecto del efecto de las diferentes fases del sueño sobre la generación de las espigas amigdalinas y su propagación cortical, se observó que el SOL-II induce una clara facilitación, mientras que el sueño MOR deprime o inhibe el evento paroxístico electrográfico cortical y subcortical. Este efecto confirma que la amígdala tiene influencias fásicas durante el sueño MOR a través de estructuras talámicas y del tallo cerebral (Calvo y Fernández-Guardiola) (2). En cuanto a la disminución o inhibición del sueño, nuestros resultados apoyan los de

Calvo y Fernández-Mas (3) no encontrando una reducción significativa del sueño durante el "foco" penicilínico amigdalino en registros de 23 horas, ya que los períodos de sueño se recorren al periodo de oscuridad.

La mayoría de los trabajos con "focos" penicilínicos se refieren a experimentos en la corteza cerebral (McLachlan y Bihari) (27), (Salgado-Benítez y col.) (30). Gloor y col. (15) refiere que al explorar las respuestas de la Pn en estructuras subcorticales, no registraron actividad epiléptica en el tálamo o núcleos extratalámicos, con excepción de la amígdala del lóbulo temporal, en la cual aparecían descargas de espigas inmediatamente después de la aplicación tópica de la sustancia. En el lóbulo anterior del cerebelo el "foco" penicilínico (Fernández-Guardiola y col.) (11) produce mioclonias en gatos las cuales son similares en cuanto a sus características conductuales y eléctricas a las que se presentan en algunos cuadros neuropatológicos en el hombre. En el núcleo dorsal del rafe (Martínez y col.) (25) no encontramos descargas epileptiformes al microinyectar Pn en diversas concentraciones. Los resultados de este trabajo nos plantean futuros experimentos para comprobar la participación de los núcleos generadores de las ondas PGO en la inhibición de la actividad paroxística.

## Agradecimientos

*Esta investigación fue apoyada por el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, el Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS, UNAM), y el Proyecto D111-903737 de CONACYT. Agradecemos la asistencia técnica de Alfredo Martínez y Alejandro Rubio; y las ilustraciones de Raúl Cardoso y José Luis Calderón.*

## REFERENCIAS

- BERTASHIUS KM: Propagation of human complex-partial seizures: a correlation analysis. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 78:333-340, 1991.
- CALVO JM, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Phasic activity of the basolateral amygdala, cingulate gyrus, and hippocampus during rem sleep in the cat. *Sleep*, 7(3):202-210, 1984.
- CALVO JM, FERNANDEZ-MAS R: Amygdaloid during wakefulness and paradoxical sleep in the cat. *Sleep organization changes produced by kindling development*. *Epilepsy Res*, 9:175-183, 1991.
- CALVO JM, FERNANDEZ-MAS R: Transitory and short-duration changes of sleep organization provoked by amygdaloid kindling in the cat. A daily 23-hour sleep recording study. *Epilepsy Res*, 19:1-13, 1994.
- CHATT AB, EBERSOLE JS: Comparison between strychnine and penicillin epileptogenesis suggest that propagating epileptiform abnormalities require the potentiation of thalamocortical circuitry in neocortical layer 4. *Exp Neurol*, 100:365-380, 1988.
- COLLINS RC: Kindling of neuroanatomic pathways during recurrent focal penicillin seizures. *Brain Res*, 150:503-517, 1978.
- DICHTER MA, AYALA GF: Cellular mechanism of epilepsy: a status report. *Science*, 237:157-164, 1987.
- DOW RS, FERNANDEZ-GUARDIOLA A, MANNI E: The influence of the cerebellum on experimental epilepsy. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 14:383-398, 1962.
- FERNANDEZ-GUARDIOLA A, MARTINEZ A, GUTIERREZ R, FERNANDEZ-MAS R: Amygdaline penicillin focus replicates and modulates electrical amygdaloid in the cat. *Proc West Pharmacol West Soc*, 43:219-222, 1991.
- FERNANDEZ-GUARDIOLA A, MARTINEZ A, FERNANDEZ-MAS R: Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23 h recording), and brain mapping study. *Epilepsy Res*, 22:127-136, 1995.
- FERNANDEZ-GUARDIOLA A, SOLIS H, JURADO JL, SALGADO A, JIMENEZ S: Aplicación tópica de penicilina en el lóbulo anterior del cerebelo: un nuevo modelo de descarga mioclónica. *Rev Inst Nal Neurol (Méx)*, 10:153-163, 1976.
- FERNANDEZ-MAS R, MARTINEZ A, GUTIERREZ R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: EEG frequency and time domain mapping study of cortical projections of temporal lobe amygdala afterdischarge during in the cat. *Epilepsy Res*, 13:23-34, 1992.
- FURSET K, ENGELSEN BA: Penicillin-Induced convulsions have preferential effects on transmitter glutamate pools in rat neostriatum. *Neurochem Res*, 14:1143-1147, 1989.
- GASTEIGER LE, ALBOWITZ B, BARKEN MF: Interictal afterdischarge in focal penicillin epilepsy: Block by thalamic cooling. *Exp Neurol*, 88:349-359, 1985.

15. GLOOR P, QUESNEY LF, ZUMSTEIN H: Pathophysiology of generalized epilepsy in the cat: The role of cortical and subcortical structures. II Topical application of penicillin to the cerebral cortex and to subcortical structures. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 43:79-94, 1977.
16. GODDARD GV, MCINTYRE DC, LEECH CK: A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol*, 25:295-330, 1969.
17. GRANATO A, SANTARELLI M, MINCHIACCHI D: Bihemispheric organization of amygdalo-cortical projections in the rat. *Neurosci Lett*, 127:53-56, 1991.
18. GUZMAN-FLORES C, ALCARAZ M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol Est Med Biol (Mex)*, 16:29-31, 1958.
19. KUDO T, YAMAUCHI T: An ontogenetic study of amygdala seizures induced by penicillin in rats. *Exp Neurol*, 102:254-260, 1988.
20. LA GRUTTA V, SABATINO M: Focal hippocampal epilepsy: Effect of caudate stimulation. *Exp Neurol*, 99:38-49, 1988.
21. LEHMENKÜHLER A, KERSTING U, NICHOLSON C: Diffusion of penicillin in agar and cerebral cortex of the rat. *Brain Res*, 444:181-183, 1988.
22. LOEB C, BO GP, SCOTTO A, BENASSI B, BESIO G, MINARDI P, FAVERIO A: GABA and phospholipids in penicillin-induced seizures. *Exp Neurol*, 90:278-280, 1985.
23. MAGOUN HW, RHINES R: An inhibitory mechanism in the bulbar reticular formation. *J Neurophysiol*, 9:165-171, 1946.
24. MARTINEZ A, FERNANDEZ-MAS R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Efecto kindling producido por un foco epileptico amigdalino inducido por penicilina, en preparaciones cronicas de gato. Estudio electroencefalografico, polisomnografico (registros de 24 horas) y de mapeo cerebral. *Anales, Instituto Mexicano de Psiquiatria*, 9:121-128, 1994.
25. MARTINEZ-CERVANTES A, FERNANDEZ-MAS R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Efecto de las microinyecciones repetidas de penicilina en el ncleo dorsal del rafe sobre la organizacin del sueo, durante registros de 23 horas, en el gato. *Salud Mental (supl. 20)*:1:23-31, 1997.
26. MCDONALD AJ: Immunohistochemical identification of gamma-aminobutyric acid-containing neurons in the rat basolateral amygdala. *Neurosci Lett*, 53:203-207, 1985.
27. MCLACHLAN RS, BIHARI F: Secondary generalization of seizures from a cortical penicillin focus following stimulation of the basan forebrain. *Exp Neurol*, 109:237-242, 1990.
28. NOEBELS JL, PEDLEY TA: Anatomic localization of topical applied [14C] penicillin during experimental focal epilepsy in cat neocortex. *Brain Res*, 125:293-303, 1977.
29. PINCE DA: Topical convulsant drugs and metabolic antagonists. En: Purpura DP, Penry JK, Tover D, Woodbury DM, Walter R (eds.). *Experimental Models of Epilepsy*. Raven Press, Nueva York, 1972.
30. SALGADO-BENITEZ A, BRIONES R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Purkinje cell responses to a cerebral penicillin induced epileptogenic focus in the cat. *Epilepsia*, 23:597-606, 1982.
31. SCHNEIDERMAN JH, ARNOLD D, ADVANI A: Different changes in spontaneous field potentials oscillations precede epileptiform bursting in hippocampal slices perfused with penicillin or reduced magnesium. *Brain Res*, 553:275-285, 1990.
32. SHIK ML, SEVERIN FV, ORLOVSKY GN: Control of walking and running by means of electrical stimulation of the mid-brain. *Biophysics*, 11:756-765, 1966.
33. SHOUSE MN: State disorder and state-dependent seizures in amygdala-kindled cats. *Exp Neurol*, 92:601-608, 1986.
34. SINGH SI, MALHOTRA CL: Amino acid content of monkey brain. I. General pattern and quantitative value of glutamic acid/glutamine, gamma-aminobutyric acid and aspartic acid. *J Neurochem*, 9:37-42, 1962.
35. SNIDER RS, NIEMER WT: *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*. University of Chicago Press, Chicago, 1961.
36. TANAKA A: Progressive changes of behavioral and electroencephalographic responses to daily amygdaloid stimulations in rabbit. *Fukuoka Acta Med*, 63:152-164, 1972.
37. TESTA G, GLOOR P: Generalized penicillin epilepsy in the cat: effect of midbrain cooling. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 36:517-524, 1974.
38. URGIN R, STERMAN MB: *A Manual for Standardized Scoring of Sleep and Waking Satates in the Adult Cat*. University of California, Los Angeles, 1981.
39. WADA JA, SATO M: Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala in cats. Correlative electrographic and behavioral features. *Neurology*, 24:55-57, 1974.
40. WADA JA, MIZOGUCHI T, KOMAI S: Cortical motor activation in amygdaloid kindling: observations in non epileptic rhesus monkeys with anterior two-thirds callosal bisection. En: Wada JA (ed). *Kindling 2*. Raven Press, Nueva York, 1981.
41. WADA JA, MIZOGUCHI T: Limbic kindling in the forebrain bisected photosensitive baboon, papio papio. *Epilepsia*, 25:278-287, 1984.
42. WATSON K, LANTHORN TH: NMDA receptor antagonists attenuate a portion of the penicillin-induced epileptiform burst. *Brain Res Bull*, 24:765-768, 1990.