

La barrera hematoencefálica y epilepsia del lóbulo temporal

Hugo Solís¹, Estela López-Hernández¹, Felipe S. Estrada

RESUMEN

La alteración de la barrera hematoencefálica (BHE) participa de manera importante en la epileptogénesis. La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) es una de las formas más comunes de epilepsia, se caracteriza por lesión de varias zonas del hipocampo. En esta revisión se analiza la participación de los posibles mecanismos o alteraciones de la BHE en el proceso de la epileptogénesis que observamos en el modelo de epilepsia inducida por la administración sistémica de pilocarpina, que reproduce las características clínicas y neuropatológicas principales de la ELT del humano. La valoración de la alteración de la BHE y la extravasación de la albúmina sérica en diferentes estados patológicos ha sido estudiada mediante el uso del azul de Evans (AE), por la ventaja de su bajo costo y fácil valoración, ya que puede visualizarse macroscópicamente. En este laboratorio hemos evaluado las posibles alteraciones de la BHE en el modelo de epilepsia experimental por la administración de pilocarpina y de AE en diferentes tiempos *post status epilepticus* (SE). Considerando que en la ELT la lesión significativa es la gliosis del lóbulo temporal, también hemos estimado la aparición de la gliosis reactiva mediante valoración de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) con el establecimiento y evolución del proceso convulsivo. Con esta revisión concluimos que existe fuerte relación entre los cambios producidos en la BHE, astrogliosis reactiva y aumento de la excitabilidad neuronal.

Palabras clave: barrera hematoencefálica, epilepsia del lóbulo temporal, pilocarpina, astrogliosis reactiva.

The blood brain barrier and the temporal lobe epilepsy

ABSTRACT

Blood-brain barrier (BBB) dysfunction has been shown to play an important role in epileptogenesis. Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most common type of partial complex seizure in adulthood. The main features of TLE are: (a) the localization of seizure foci, particularly in the hippocampus, entorhinal cortex and amygdala; (b) the frequent finding of an «initial precipitating injury» that precedes the appearance of TLE; (c) a seizure-free time interval following the precipitating injury known as «latent period»; and (d) a high incidence of mesial or *Cornu Ammonis* (CA) sclerosis, i.e., an unilateral hippocampal lesion leading to atrophy, typically caused by neuronal loss and gliosis in the subiculum-CA1 transition zone and the dentate hilus. It is not known how the BBB integrity changes during epileptogenesis and whether alterations in BBB permeability can contribute to spontaneous seizure progression. To determine BBB permeability in the pilocarpine model of TLE the Evans Blue (EB) was used as a macroscopically tracer experiments of albumin extravasation. Also we have been evaluated the reactive gliosis by mean of the expression of the glial fibrillary acidic protein (GFAP) after different time points of *status epilepticus* (SE). In the present review, we provide an overview about the function of the BBB in epilepsy and the potential role reactive gliosis may play in the pathophysiology of epilepsy.

Key words: blood brain barrier, temporal lobe epilepsy, pilocarpine, reactive astrogliosis.

La barrera hematoencefálica (BHE) protege al tejido neural de variaciones que ocurren en la concentración de componentes sanguíneos y posibles toxinas. Esta idea surgió cuando Paul Ehrlich observó que la administración intravenosa de ciertos colorantes (azul de tripano) teñían a todos los órganos excepto al encéfalo y médula espinal. Después Edwin Goldman, alumno de Ehrlich, demostró que la aplicación directa en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los colorantes tiñó de manera significativa al tejido nervioso pero no a otros tejidos. Las células endoteliales en los capilares cerebrales prácticamente constituyen la BHE. En el adulto, la BHE consiste en un complejo sistema celular de una especial membrana basal, con un buen número de pericitos embebidos en esta membrana basal y el pie del astrocito. Las células endoteliales forman propiamente la barrera, y la interacción con células adyacentes es indispensable para integrar de manera adecuada esta barrera. Las células endoteliales cerebrales (CEC) difieren de otras endoteliales de otros órganos en dos aspectos fundamentales. Primero, entre las CEC está presente una estructura conocida como *tight junctions* en inglés, uniones estrechas (UE) en español, que conectan firmemente a las células endoteliales y en alguna forma limitan el movimiento de moléculas. Segundo, no hay vías transendoteliales tales como las vesículas intracelulares. Además existen transportadores de flujo de la familia unión-ATP, por ejemplo la glicoproteína-P y proteínas multidroga relacionadas con la resistencia farmacológica, que restringen la entrada de sustancias al encéfalo. De esta forma las células endoteliales tienen numerosos transportadores de membrana involucrados en la entrada/salida (influx/efflux) de sustratos esenciales como glucosa, aminoácidos, electrolitos que deben ingresar al encéfalo o sustancias que deben salir como los xenobióticos. En la figura 1 se ilustran algunos de los componentes celulares y procesos fisiocoquímicos que se llevan a cabo en la BHE^{1,2}.

En nuestro organismo las concentraciones extracelulares de hormonas, aminoácidos y algunos iones, como el potasio (K^+), muestran fluctuaciones por ejemplo después de la ingesta de alimentos, ejercicio o estrés. Muchas de estas moléculas regulan la excitabilidad neuronal, por lo que cambios en la composición del líquido intersticial en el sistema nervioso central (SNC) puede llevar a un estado de hiperexcitabilidad neuronal. Las células endoteliales, que junto con otras células como pericitos, glia y microglia integran la unidad neurovascular, forman la BHE. Son altamente especializadas y controlan con gran precisión las sustancias que deben entrar o salir al y del SNC. La BHE está dañada en varias alteraciones neurológicas tales como enfermedad

de Alzheimer (EA), esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y epilepsia. Sin embargo, el papel de la BHE en la fisiopatología de estas enfermedades no está aún del todo claro. De estas enfermedades nos interesa en particular la epilepsia en especial la del lóbulo temporal (ELT). En esta revisión analizaremos y discutiremos la participación de los posibles mecanismos o alteraciones de la BHE en el proceso de la epileptogénesis que observamos en el modelo de ELT inducido por la administración sistémica de pilocarpina.

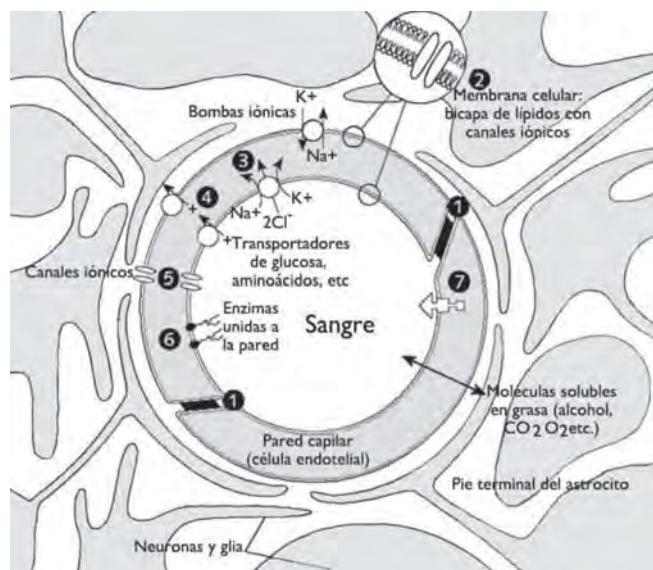


Figura 1: Características de la barrera hematoencefálica. **1.** Uniones intercelulares o estrechas o *tight junction* (en inglés), sellan la vía entre la pared del capilar y células. **2.** Detalle amplificado de la membrana celular de la pared del capilar. Ilustra la bicapa lipídica que la constituye y canales iónicos inmersos en ella. Esta estructura hace que la membrana celular sea selectivamente permeable. **3,4 y 5** representan algunos de los transportadores y canales iónicos que tiene la pared del capilar. **6.** Ilustra la barrera enzimática que remueve las moléculas de la sangre. **7.** Bombas extractoras que fuerzan la salida de moléculas solubles en grasa que pasaron a través de las células. Modificada de: <http://www.answers.com/topic/blood-brain-barrier>

La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) es una de las formas más comunes de epilepsia en el ser humano³. Se estima que el 40% de los pacientes adultos con crisis focales complejas tienen ELT⁴. Se ha establecido que existe una relación estrecha entre el daño del hipocampo, progresión del proceso fisiopatológico, refractariedad o resistencia al tratamiento farmacológico y evolución de

Recibido: 29 julio 2013. Aceptado: 19 agosto 2013.

¹Laboratorio de Neurofisiología. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. CU. UNAM. Correspondencia: Hugo Solís. Laboratorio de Neurofisiología. Departamento de Anatomía. Edificio B 4º. Piso. Facultad de Medicina. Ciudad Universitaria. UNAM. E-mail: hugosol@unam.mx

la ELT⁵. La pérdida neuronal por lo general se localiza en áreas CA1 y CA3 del hipocampo, lo que se considera como el daño clásico⁶. Sin embargo, se han observado pérdidas neuronales más extensas en otras áreas de los lóbulos temporales que se han extirpado de enfermos con ELT, entre las que están: la amígdala, *uncus* del hipocampo y giro parahipocampal^{7,8}. A esta forma de daño neuronal se le ha denominado esclerosis mesial del lóbulo temporal (EMLT)⁹⁻¹¹.

Los cambios fisiopatológicos en la ELT también consisten en el desarrollo de nuevos contactos sinápticos a través de fibras musgosas de la célula granular a las células CA3 y dentro del mismo giro dentado, que se dispersan o dupican, y forman vías recurrentes excitadoras hacia las dendritas de las células granulares^{12,13}; así como, a un extenso arreglo de alteraciones neuroquímicas¹⁴. En el hipocampo y la EMLT el daño neuronal es remplazado por células gliales que forman gliosis, lo que disminuye el volumen del hipocampo y de otras estructuras, ocasiona atrofia y esclerosis, que se observa como cambios significativos y pérdida de volumen en las imágenes de resonancia magnética (RM)^{15,16}.

Durante los últimos años se ha observado que tanto en la epilepsia como en otros trastornos del SNC, la alteración en la integridad y funcionalidad de la BHE está presente desde el inicio del proceso fisiopatológico. En el estudio llevado a cabo por van Vliet, et al, en 2007¹ se observó que la permeabilidad de la BHE, medida con trazadores y por la concentración de albumina, aumenta poco después del *status epilepticus* (SE) pero también en el periodo latente y en la fase crónica del proceso epiléptico en la rata. En este estudio también se observó extravasación de albumina en el tejido cerebral extirpado a pacientes epilépticos sometidos a cirugía por epilepsia de difícil control. Existen datos experimentales y clínicos que indican que las crisis epilépticas producen alteraciones significativas en la permeabilidad de la BHE, se ha observado que estas alteraciones son reversibles y confinadas a áreas anatómicas encefálicas limitadas. Las crisis epilépticas pueden producir incremento en la permeabilidad cerebro capilar, lo que induce alteraciones en la función cerebrovascular que involucra una interacción entre factores del sistema global y fenómenos moleculares más localizados que ocurren en el microambiente de las neuronas¹⁷. Por lo general, la duración de la actividad epiléptica se correlaciona con la reducción de las funciones de la BHE, ya que el incremento en la presión arterial cerebral ocasiona que la BHE se haga permeable a macromoléculas, como albúmina, que induce alteraciones en la excitabilidad neuronal. Algunos estudios revelan que el incremento agudo de la presión sanguínea o de la actividad epiléptica causa incremento en la pinocitosis del endotelio cerebral¹⁸⁻²⁰. Por lo

anterior, la disfunción cerebrovascular ha sido recién propuesta en la etiología de la epilepsia o del proceso epileptogénico.

Otros estudios establecen que la alteración de la BHE parece estar mediada por la exposición del parénquima cerebral al K⁺ y a la albúmina sérica. De modo tal que la concentración extracelular del K⁺ se incrementa en rapidez al alterarse la permeabilidad de la BHE. Este aumento rápido del K⁺ puede contribuir a la generación aguda de las crisis. Por otro lado, la albúmina sérica que se extravasa, es captada por astrocitos, lo que conlleva alteración importante en su actividad celular, al parecer por la modificación del receptor glial específico (TGF-β)^{1,21-23} y sus vías de señalización que disminuyen la regulación entrante de los canales rectificadores de K⁺ (Kir 4.1), lo que resulta en disminución de la capacidad amortiguadora del K⁺ extracelular. Esta acumulación de K⁺ extracelular deriva en la facilitación de los receptores N-methyl-D-aspartato (NMDA), que participan en la hiperexcitabilidad neuronal y eventualmente en la actividad epileptiforme²⁴. Dichas modificaciones parecen dañar la microvasculatura cerebral y extravasación de las proteínas séricas, lo que a su vez se asocia con daño neuronal temprano o tardío que también contribuye al proceso epileptogénico.

La valoración de la alteración de la BHE y extravasación de la albumina sérica en diferentes estados patológicos ha sido estudiada mediante diferente metodología y con el uso de diversos colorantes del tipo azul de tripano²⁵, azul de Evans (AE)²⁶, fluoresceina de sodio²⁷ y peroxidasa de rábano²⁸, entre los más usados.

El AE, aunque tiene sus limitaciones, es utilizado ahora por la ventaja de su bajo costo, fácil valoración, ya que puede visualizarse macroscópicamente, y por su compatibilidad con otros métodos de estudio²⁹. Como marcador de los cambios en la permeabilidad de la BHE ha sido usado en modelos de epilepsia con pentilentetrazol³⁰, bicuculina³¹, kainato³², nicotina³³ y otros varios agentes convulsionantes³⁴.

El modelo de ELT que se provoca a roedores con el agonista colinérgico muscarínico, pilocarpina ya sea sólo o combinado con litio, reproduce las características clínicas y neuropatológicas principales de la ELT del humano. Las ratas tratadas con una sola dosis de pilocarpina desarrollan SE y en los siguientes 14 a 25 días presentan una etapa latente libre de crisis convulsivas. Durante este periodo, se considera que se establece el daño neuronal que se desarrolla principalmente en hipocampo, hilus del giro dentado, corteza piriforme y entorrinal, amígdala, neocorteza y tálamo. Con frecuencia se asume, que el daño neuronal que se instaura, sirve como guía para un nuevo circuito neuronal hiperexcitable que se constituye y permite que se

presenten las crisis convulsivas espontáneas y recurrentes (CCER), que son las que caracterizan la fase crónica del modelo, ya que la rata las presenta a lo largo de su vida³⁵⁻³⁷.

En este laboratorio hemos valorado la alteración de la BHE utilizando el AE, en ratas sometidas a SE después de aplicar por vía sistémica (intraperitoneal) una sola dosis (350 mg/kg) de pilocarpina de acuerdo con el modelo de Turski, et al, 1983³⁵. Hemos observado una correlación entre la cantidad y regiones cerebrales que se tiñen y duración del SE al que fue sometido el animal de experimentación. Esto se ilustra en la figura 2. De estos experimentos concluimos que los cambios de permeabilidad de la BHE se acentúan en función del tiempo, que determinan el posible cambio en la plasticidad neuronal responsable de la epileptogénesis.

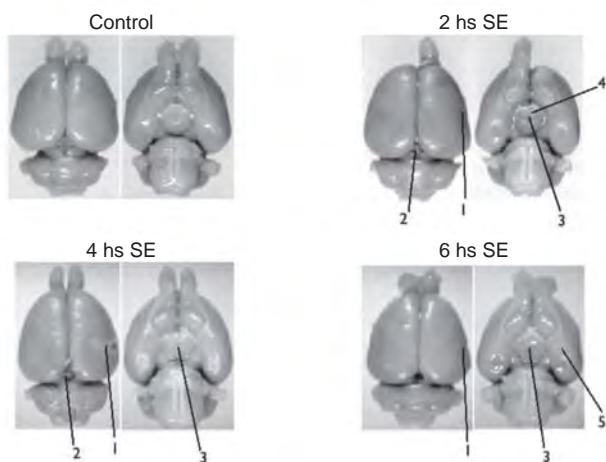


Figura 2. Fotografías de cerebros de ratas Wistar de 36 días de edad promedio sometidas a *status epilepticus* (SE); por administración de pilocarpina, previa administración de azul de Evans (AE) al 2% por vía intraperitoneal a una dosis de 4 ml/kg de peso. En la parte superior izquierda cerebros de las ratas control. El resto de las imágenes corresponden a los diferentes tiempos de duración del SE y momento en que fueron sacrificados los animales. Se hace evidente la coloración del AE que se observa en algunas partes de los cerebros de las ratas sometidas al SE durante 2, 4 y 6 hs. Específicamente a nivel de la corteza cerebral (1) y del cuerpo pineal (2) en la vista dorsal y en el infundíbulo (3), tuber cinereum (4) y lóbulos piriformes (5) en la vista ventral.

En otra serie de experimentos desarrollados en este laboratorio se ha valorado el posible cambio en la integridad de la BHE; utilizando la aplicación de pilocarpina a una dosis de 380 mg/kg, que consideramos como la dosis 100%. Valoramos la aparición de gliosis reactiva. Para este fin evaluamos la cantidad, morfología y expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP siglas en inglés) que se considera específica del astrocito. Observamos cambios significativos en el número de astrocitos en la región del hilus a las 4 y 8

semanas (4S, 8S) después del SE de una hora promedio de duración (figura 3B y C). Asimismo, se observó variación significativa en la morfología del astrocito valorada con el método y análisis de Sholl con el que se estableció la hipertrofia en las ramificaciones astrocíticas en diferentes tiempos después del SE, como se ilustra en la figura 3 (E y F)³⁸.

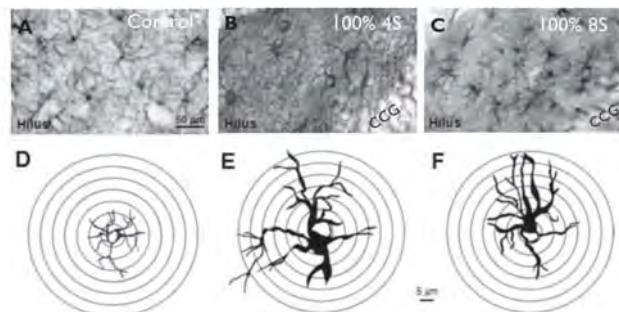


Figura 3. Cortes ilustrativos de la región del hilus del giro dentado del hipocampo de ratas sometidas a SE por administración de 380 mg/kg de pilocarpina (100 % de la dosis) y sacrificadas a las 4 (4S) y 8 semanas (8S) posteriores al SE. Se valoró la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP). **A:** ratas control. **B:** 100 % de la dosis, 4S. **C:** 100 % de la dosis, 8S. Es notable el aumento en el número y tamaño de los astrocitos en **B** y **C** con respecto a **A**. Capa de células granulares (CCG). **D, E y F** corresponden al análisis con el método de Sholl. En **E** y **F** se observa la hipertrofia y cambios significativos en las ramificaciones y volumen del soma del astrocito. Modificada de Estrada SF, et al, 2012.

Por lo anterior y a manera de resumen, podemos establecer que la participación de la BHE en el proceso epiléptico resulta en la actualidad muy significativa. Los cambios en la permeabilidad de la BHE obedecen a varios factores, entre ellos están:

- a. El aumento en la presión intracranal que ocasiona la disfunción cerebrovascular
- b. La hipertrofia en la citoarquitectura de los astrocitos que se observa a las 4 y 8 semanas después del SE, que para nosotros resulta significativo. Aunque hay estudios que señalan que la hipertrofia de los astrocitos se observa un día después del SE por pilocarpina³⁹.
- c. Otros mecanismos que incluyen las proteínas que constituyen las uniones estrechas de la BHE entre las que están: clausina, actina, ocludina, ZO-1, ZO-2, moléculas de adhesión (JAM) y caderina⁴⁰. Otras sustancias que por estudios experimentales se ha demostrado que la célula glial, tanto astrocitos como microglia, expresan altos niveles de citocinas proinflamatoria en varias regiones cerebrales involucradas en la generación y mantenimiento de crisis convulsivas⁴¹.

Por lo tanto, se requiere continuar con el estudio de la ELT en humanos como en modelos experimentales

para conocer más sobre estos procesos de la BHE que en la actualidad sabemos contribuyen de manera importante en el mecanismo de la epileptogénesis.

REFERENCIAS

1. Van Vliet EA, da Costa Araújo S, Redeker S, van Schaik R, Aronica E, Gorter JA. Blood-brain barrier leakage may lead to progression of temporal lobe epilepsy. *Brain* 2007;130:521-34.
2. Carvey PM, Hendey B, Monahan AJ. The blood-brain barrier in neurodegenerative disease: a rhetorical perspective. *J Neurochem* 2009; 111(2):291-314.
3. Engel J Jr. Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1996; 26:141-50.
4. McNamara. The neurobiological basis of epilepsy. *TINS* 1992; 15(10):357-9.
5. Salmenperä T, Kälviäinen R, Partanen K, Pitkänen A. Hippocampal damage caused by seizures in temporal lobe epilepsy. *Lancet* 1998;351:35.
6. Sendrowski K, Sobaniec W. Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacol Rep* 2013;65(3):555-65.
7. Silva AV, Houzel JC, Croaro I, Márcia TYE, Stavale JN. Silva CR, et al. Granular cell dispersion and bilamination: two distinct histopathological patterns in epileptic hippocampi? *Epileptic Disord* 2007;9(4):438-42.
8. Dudek FE, Sutula TP. Epileptogenesis in the dentate gyrus: a critical perspective. *Progress in Brain Research* 2007; 163: 755-73.
9. Williamson PD, French JA, Thadani VM, Kim JH, Novelty RA, Spencer SS, et al. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: II. Interictal and ictal scalp electroencephalography, neuropsychological testing, neuroimaging, surgical results, and pathology. *Ann Neurol* 1993;34(6):781-7.
10. Plate KH, Wieser HG, Yasargil MG, Wiestler OD. Neuropathological findings in 224 patients with temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol* 1993; 86 (5): 433-8.
11. Cersósimo R, Flesler S, Bartuluchi M, Soprano A, Pomata H, Caraballo R. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: Study of 42 children. *Seizure* 2011;20:131-7.
12. De Lanerolle NC, Brines M, Williamson A, Kim, JH, Spencer DD. Neurotransmitters and their receptors in human temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res Suppl* 1992;7:235-50.
13. Koyama R, Yamada MK, Fujisawa S, Katoh-Semba R, Matsuki N, Ikegaya Y. Brain-derived neurotrophic factor induces hyperexcitable reentrant circuits in the dentate gyrus. *J Neurosci* 2004;24(33):7215-24.
14. Arabadzisz D, Antal K, Parpan F, Emri Z, Fritschy JM. Epileptogenesis and chronic seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy are associated with distinct EEG patterns and selective neurochemical alterations in the contralateral hippocampus. *Exp Neurol* 2005;194(1):76-90.
15. Roldán-Valadez E, Corona-Cedillo R, Cosme-Labarthe, J y Martínez-López M. Esclerosis temporal mesial en epilepsia del lóbulo temporal: evaluación cuantitativa con resonancia magnética 3.0 Tesl. *Gac Méd Méx* 2007;143(5):433-6.
16. Kasasbeh A, Hwang E.C, Steger-May K, Kathleen Bandt S, Oberhelman A, Limbrick D, et al. Association of magnetic resonance imaging identification of mesial temporal sclerosis with pathological diagnosis and surgical outcomes in children following epilepsy surgery. *J Neurosurg Pediatrics* 2012;9:552-61.
17. Ilbay G, Dalcik C, Yardimoglu M, Dalcik H, Ubeysi ED. The Blood-Brain Barrier and Epilepsy. Epilepsy - Histological, Electroencephalographic and Psychological Aspects, Dr. Dejan Stevanovic (Ed.), 2010. ISBN: 978-953-51-0082-9, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/epilepsy-histological-electroencephalographic-and-psychological-aspects/the-blood-brain-barrier-and-epilepsy>
18. Cornford EM, Oldendorf WH. Epilepsy and the blood-brain barrier. *Adv Neurol* 1986; 44:787-812.
19. Ilbay G, Sahin D, Ates, N. Changes in blood-brain barrier permeability during hot water-induced seizures in rats. *Neurol Sci* 2003; 24:232-5.
20. Oby E, Janigro D. The blood-brain barrier and epilepsy. *Epilepsia* 2006;47(11):1761-74.
21. David Y, Cacheux LP, Ivens S, Lapilover E, Heinemann U, Kaufer D, et al. Astrocytic dysfunction in epileptogenesis: consequence of altered potassium and glutamate homeostasis? *J Neurosci* 2009;29(34):10588-99.
22. Friedman A, Cacheux LP, Ivens S, Kaufer D. Elucidating the Complex Interactions between Stress and Epileptogenic Pathways. *Cardiovasc Psychiatry Neurol* 2011;461263.
23. Kovacs, R, Heinemann, U. and Steinhäuser, C. Mechanisms underlying blood-brain barrier dysfunction in brain pathology and epileptogenesis: Role of astroglia. *Epilepsia* 2012; 53(Suppl. 6):53-9.
24. Ivens S, Kaufer D, Flores LP, Bechmann I, Zumsteg D, Tomkins O, Seiffert E, Heinemann U, Friedman A. TGF- β receptor-mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. *Brain* 2007; 130: 535-47.
25. Reynolds DS, Morton AJ. Changes in blood-brain barrier permeability following neurotoxic lesions of rat brain can be visualised with trypan blue. *J Neurosci Methods* 1998;79:115-21.
26. Persson L, Hansson HA, Sourander P. Extravasation, Spread and Cellular Uptake of Evans Blue-Labelled Albumin around a Reproducible Small Stab-Wound in the Rat Brain. *Act Neuropath (Berl.)* 1976; 34:125-36.
27. Kozler P, Pokorny J. Altered blood-brain barrier permeability and its effect on the distribution of evans blue and sodium fluorescein in the rat brain applied by intracarotid injection. *Physiol. Res* 2003; 52: 607-14.
28. Nag S. Blood-Brain Barrier Permeability Using Tracers and Immunohistochemistry. En: methods in molecular medicine. 2003; 89: The Blood-Brain Barrier: Biology and Research Protocols Edited by: S. Nag Humana Press Inc, Totowa, NJ. Disponible en: <http://www.springerprotocols.com/Full/doi/10.1385/1-59259-419-0:133?encCode=UOV00jMzMTowLTkxNC05NT15NS0x&tokenString=XIGpmymctmJZ6Z6n+cNk44Q==>
29. Kaya M. and Ahishali B. Assessment of Permeability in Barrier Type of Endothelium in Brain Using Tracers: Evans Blue, Sodium Fluorescein, and Horseradish Peroxidase. En: Kursad Turksen (ed.) *Permeability Barrier: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, 2011; 369-382. Disponible en: http://www.springerprotocols.com/Abstract/doi/10.1007/978-1-61779-191-8_25?verPrint=print
30. Sahin D, Ilbay G, Ates N. Changes in the blood-brain barrier permeability and in the brain tissue trace element concentrations after single and repeated pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *Pharmacol Res* 2003; 48:69-73.
31. Johansson B, Nilsson B. The pathophysiology of the blood-brain barrier dysfunction induced by severe hypercapnia and by epileptic brain activity. *Acta Neuropath (Berl)* 1977;38:153-8.
32. Manley NC, Bertrand AA, Kinney KS, Hing TC, Sapolsky, RM. Characterization of monocyte chemoattractant protein-1expression following a kainate model of status epilepticus. *Brain Res* 2007;1182:138-43.
33. Üzüm G, Sarper Diler A, Ziya Ziylan Y. Chronic nicotine pretreatment protects the blood-brain barrier against nicotine-induced seizures in the rat. *Pharmacol Res* 1999;40(3):263-9.
34. Nitsch C, Klatzo I. Regional patterns of blood-brain barrier breakdown during epileptiform seizures induced by various

- convulsive agents. *J Neurol Sci* 1983;59(3):305-22.
35. Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SL, Kleinrok Z, Turski LW. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: Behavioral, electroencephalographic and neuropathological study. *Behavioural Brain Res* 1983; 9: 315-35.
36. Cavalheiro EA. The pilocarpine model of epilepsy. *Ital J Neurol Sci* 1995;16(1-2): 33-7.
37. Dubé C, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A. Progressive metabolic changes underlying the chronic reorganization of brain circuits during the silent phase of the lithium-pilocarpine model of epilepsy in the immature and adult Rat. *Exp Neurol* 2000; 162(1):146-57.
38. Estrada SF, Hernández SV, López-Hernández E, Corona-
Morales AA, Solís H, Escobar A, et al. Glial activation in a pilocarpine rat model for epileptogenesis: a morphometric and quantitative analysis. *Neurosci Lett* 2012; 514:51-6.
39. Shapiro LA, Wang L, Ribak CE. Rapid astrocyte and microglial activation following pilocarpine-induced seizures in rats. *Epilepsia* 2008; 49 (Suppl. 2):33-41.
40. Conti F. Compilador. *Fisiología médica*. 1a. Edición en Español. McGraw-Hill Interamericana Eds, 2010. Capítulo 11: Sistema nervioso: componentes y organización.
41. Kim SY, Buckwalter M, Soreq H, Vezzani A, Kaufer D. Blood-brain barrier dysfunction-induced inflammatory signaling in brain pathology and epileptogenesis. *Epilepsia* 2012;53 Suppl 6:37-44.