

EFFECTO DE LA NALOXONA SOBRE UN FOCO EPILÉPTICO INDUCIDO POR PENICILINA EN LA AMÍGDALA DEL LÓBULO TEMPORAL DE GATOS. EEG Y REGISTROS POLISOMNOGRÁFICOS DE 23 HORAS

Adrián Martínez*, Rodrigo Fernández-Mas*, Alejandro Valdés-Cruz*, Víctor Magdaleno-Madrigal*, Augusto Fernández-Guardiola*,**

SUMMARY

It is known that epileptic activity modifies the system of the endogenous opioids, increasing its concentration at the end of the ictal and post-ictal phases. It is also known that μ opioid receptors stimulation in the pontine reticular formation inhibits rapid eye movement (REM) sleep. Besides, opioid peptides induce an excitatory effect generating a desynchronization on the electroencephalogram (EEG) and, a reduction of slow-wave sleep and REM sleep. Based on clinical and experimental observation carried out in animal models, there seems to be an intimate relationship between epilepsy and sleep, because epileptic activity is facilitated during slow-wave sleep while it is inhibited during the REM sleep. Based on these data, we analyzed the effect of naloxone on the epileptic activity induced by penicillin sodium g (Pn) in the amygdala of the temporal lobe, and also EEG and polysomnographic 23-h recordings in cats.

The considered variables were the following: a) latency, amplitude and duration of the interictal spikes in the EEG, and b) the changes in the organization of sleep caused by the epileptic activity.

Two effects were observed by the naloxone injection: the first was upon epilepsy progression and sleep, and the second on the sleep-wake cycle, under control conditions. Recordings were obtained in different situations. Group I received microinjections of saline solution in amygdala (control n=28), group II received microinjections of Pn in amygdala (n=40), group III received microinjections of Pn in amygdala plus naloxone IP (n=20), and group IV only received naloxone via IP (n=8). The recordings were qualified manually and were captured by means of the computational program Winsleep (Windows platform), to obtain the descriptive statistic of each stage (total number,

total time, average duration in minutes, percentage, and latency). Numeric data were analyzed with the t-Student's test for two independent groups.

The effects of the Pn plus the naloxone injection produced a facilitation of the afterdischarge (an increase on amplitude and frequency), which stabilizes between 10-15 minutes; occasionally, this afterdischarge leads to focal seizures. In the organization of the sleep-wake cycle we observed a decrease in the total time of the wakefulness, a decrease in the total time of the slow-wave sleep I (SWS-I), an increase in the total time of the slow-wave sleep (SWS-II), and a decrease in the latency of the first REM sleep (in comparison with Pn alone).

Dosages of 1 mg/kg of naloxone alone produced a prolonged desynchronization of the EEG characterized by an increase in the wakefulness, a decrease in the SWS-I, SWS-II, and in the REM sleep.

The data obtained on the present study showed the facilitator effect of naloxone on the epileptic activity of the amplitude and frequency of the afterdischarge. Besides, we observed an increase of the SWS-II and a decrease of the latency of the REM sleep; in the sleep-wake cycle under control conditions, we observed a decrease of the SWS-I and II joined to an increase in the wakefulness.

Our results demonstrate naloxone administration blocks the inhibitory effect of the opioids (liberated in the amygdala by the application of Pn) on the onset of the REM sleep and an activation of the mechanisms of induction of the SWS-II. This points out to the possibility that enkephalinergic inhibitory processes control the appearance of the REM sleep, but it has not been elucidated so far.

Key words: Penicillin, naloxone, amygdala, EEG, REM sleep.

*Subdirección de Investigación en Neurociencias del 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, Tlalpan, 14370 México, D.F. E-mail: adrianmc@imp.edu.mx

Recibido primera versión: 19 de junio de 2001. Segunda versión: 15 de marzo 2002. Aceptado: 23 de abril 2002.

RESUMEN

Se sabe que la actividad epiléptica modifica el sistema de los opioides endógenos, aumentando su concentración en la terminación de las fases ictal y postictal. Por otra parte, se sabe del efecto inhibitorio que tiene la estimulación de los receptores opioides μ en la formación reticular pontina sobre el sueño MOR. También es conocido el efecto excitador cortical de los opioides, que genera una desincronización sobre el electroencefalograma (EEG) y suprime el sueño de ondas lentas y el sueño MOR. Así, en las observaciones clínicas y experimentales llevadas a cabo en modelos animales surge una íntima relación entre la epilepsia y el sueño, debido a que la actividad epiléptica se facilita durante el sueño de ondas lentas y se inhibe durante el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). Como consecuencia de nuestro trabajo y de los resultados arriba mencionados, el objetivo del presente estudio es analizar el efecto de la naloxona sobre la actividad epiléptica inducida por penicilina G sódica (Pn) en la amígdala del lóbulo temporal (AM), en el EEG y en registros polisomnográficos de 23 horas en gatos.

Las variables consideradas fueron las siguientes: a) latencia, amplitud y duración de las espigas interictales en el EEG, y b) los cambios en la organización de sueño provocados por la actividad epiléptica. Se observaron dos efectos producidos por la naloxona: el primero, sobre la epilepsia y el sueño, y el segundo sobre el ciclo sueño-vigilia, en condiciones control.

Se obtuvieron registros en diferentes situaciones. El grupo I recibió microinyecciones de solución salina en amígdala (control $n=28$), el grupo II recibió microinyecciones de Pn en amígdala ($n=40$), el grupo III recibió microinyecciones de Pn en amígdala más naloxona IP ($n=20$) y el grupo IV recibió únicamente naloxona vía IP ($n=8$). Los registros se calificaron manualmente y se capturaron por medio del programa computacional *Winsleep* (para plataforma Windows), para obtener la estadística descriptiva de cada estadio (número total, tiempo total, duración promedio en minutos, porcentaje y latencia). Los datos numéricos fueron analizados con la prueba *t-student* para dos grupos independientes.

Los cambios producidos por la Pn más naloxona fueron una facilitación de la posdescarga (un aumento de la amplitud y de la frecuencia), estabilizándose entre 10-15 minutos; en ocasiones aparecieron crisis focales. En la organización del ciclo sueño-vigilia se observó una disminución en el tiempo total de la vigilia (V), una disminución en el tiempo total del sueño de ondas lentas I (SOL-I), un aumento del tiempo total del sueño de ondas lentas II (SOL-II) y una disminución en la latencia del primer sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (en comparación con la Pn sola).

Los cambios inducidos por la naloxona sola fueron una desincronización prolongada del EEG, caracterizada por un aumento de la vigilia, una disminución del SOL-I, del SOL-II y del sueño MOR.

Los datos obtenidos en este trabajo muestran el efecto facilitador de la naloxona sobre la actividad epiléptica, en la amplitud y frecuencia de la posdescarga, así como un aumento del SOL-II y una disminución de la latencia del sueño MOR; en el caso del ciclo sueño-vigilia en condi-

ciones control, se muestra una disminución del SOL-I y II, aunado a un aumento en la vigilia.

Nuestros resultados sugieren que la administración de naloxona bloquea el efecto inhibitorio de los opioides (liberados en la amígdala por la aplicación de Pn) sobre la instalación del sueño MOR y una activación de los mecanismos de inducción del SOL-II. Esto plantea la posibilidad de que mecanismos inhibidores encefalínérgicos controlen la aparición del sueño MOR, pero esto no se ha dilucidado aún.

Palabras clave: Penicilina, naloxona, amígdala, EEG, sueño MOR.

INTRODUCCIÓN

La actividad epileptiforme es resultado de las interacciones de una red de neuronas corticales con disparo de potenciales de acción (3); estas reacciones electrofisiológicas reflejan un inusual grado de sincronización neuronal, caracterizadas por la presencia de descargas onda-espiga a 3 c/s (ciclos por segundo). Esta actividad focal epileptiforme es inducida por la penicilina cuando se aplica en la superficie pial de la corteza cerebral y en áreas subcorticales en concentraciones de 50 a 5000 Unidades Internacionales (UI) (16, 17, 18); lo anterior provoca cambios electrofisiológicos, bioquímicos (Leu- y Met encefalinas) (2) y conductuales (polisomnografía de 23 horas) (16, 17).

Las observaciones clínicas y los experimentos llevados a cabo en modelos experimentales sugieren que hay una íntima correlación entre la epilepsia y el sueño (14, 29). Así, se sabe que la actividad epiléptica es facilitada durante el sueño de ondas lentas e inhibida durante el sueño MOR (17).

Evidencias experimentales indican que la actividad epiléptica modifica el sistema de los opioides endógenos, aumentando su concentración (21, 37, 40) en la terminación de la fase ictal y la fase postictal (5, 8, 12, 36). Asimismo, se ha reportado un aumento en los niveles tisulares de péptidos opioides y sus precursores, así como en su liberación durante y después de la actividad epiléptica (2, 28, 31, 37, 40).

En cuanto al papel de los opioides endógenos sobre el sueño, se ha reportado que la morfina tiene un efecto excitador en el cerebro anterior, el cual se asocia a una desincronización del EEG, lo que a su vez suprime el sueño de ondas lentas y el sueño MOR (1). En la parte pontina del tallo cerebral se observa un efecto

sincronizador en el EEG (7, 30), mientras que en el *locus coeruleus* se ha detectado un aumento en el tiempo total y en la duración de las fases de sueño de ondas lentas por las microinyecciones de morfina (18). Además, las conductas propias de la privación de sueño, como el estrés, se pueden bloquear por la administración de naloxona e incrementar por la de agonistas opioides (13).

El efecto de los opioides en el ciclo sueño-vigilia no se conoce del todo y nuestro interés es mostrar la participación de los opioides endógenos en la relación entre el sueño y la epilepsia. El objetivo del presente trabajo fue observar el efecto del pretratamiento con naloxona en la relación entre el ciclo sueño-vigilia y el modelo de epilepsia inducida por penicilina tópica en la amígdala del lóbulo temporal del gato.

MÉTODO

Los experimentos se realizaron de acuerdo con las normas establecidas por el Comité de Ética en Investigación en Animales del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Se usaron seis gatos machos, con un peso promedio de 3.9 kg. A todos se les hizo un implante quirúrgico para registro crónico, bajo anestesia con pentobarbital sódico (33 mg/kg IV). Se colocaron estereotáxicamente (35) un electrodo bipolar paralelo de acero inoxidable hacia el núcleo basolateral de AM derecha, una cánula (diámetro del número 20) unida a un electrodo bipolar paralelo de acero inoxidable hacia el núcleo basolateral de la AM izquierda y electrodos paralelos de acero inoxidable con tres puntas hacia ambos cuerpos geniculados laterales. También se colocaron electrodos epidurales en ambas cortezas prefrontales y en la órbita supraóptica derecha, además de electrodos convencionales flexibles en los músculos de la nuca, parámetros necesarios para un registro convencional del sueño. Todos los animales tuvieron un periodo de recuperación postoperatorio de 15 días que sirvió como habituación en la cámara de registro sonoamortiguada, durante los cuales recibieron tratamiento con antibióticos (penicilina G, procaína), cinco días posteriores a la cirugía.

Procedimiento experimental: La manipulación consistió en registros de 23 horas de la actividad eléctrica cerebral en cuatro diferentes con-

diciones experimentales, que se iniciaron a las 8:30 de la mañana, inmediatamente después de la manipulación: el grupo I recibió microinyecciones de 1 µl de solución salina al 0.9% en AM (control); el grupo II recibió microinyecciones de Pn (50 UI), disuelta en 1 µl de solución salina en AM izquierda; el grupo III recibió microinyecciones de Pn (50 UI), disuelta en 1 µl de solución salina en AM izquierda y naloxona (1 mg/kg IP), disuelta en 1 ml de solución salina, 15 minutos antes de la Pn; el grupo IV recibió naloxona (1 mg/kg IP) disuelta en 1 ml de solución salina.

Los registros se calificaron manualmente (39), se midió en milímetros la duración de cada estadio (vigilia, SOL-I, SOL-II y sueño MOR) y se capturaron manualmente en el programa computacional *Winsleep* (para plataforma Windows)(4), ya que realiza las gráficas convirtiendo los milímetros en minutos, para obtener la estadística descriptiva de cada estadio (el número total, el tiempo total y la duración promedio en minutos, porcentaje y latencia). *Winsleep* es un *software* escrito en C++, ANSI, diseñado para funcionar en plataformas PC (intel). Asimismo, *Winsleep* se diseñó para utilizarse en protocolos experimentales en humanos y animales, de manera que es más flexible que la mayoría de otros programas similares que se usan exclusivamente en el área clínica.

Todas estas variables (latencia, duración, número de ocurrencias, tiempo total y porcentaje de cada una de las fases) fueron promediadas en cada uno de los grupos y comparadas usando la prueba estadística *t* de *Student*. En los registros de 23 horas se compararon los grupo III *versus* grupo I y II, grupo I *versus* grupo IV.

En cuanto a la actividad interictal, las variables consideradas fueron las siguientes: a) la latencia, amplitud y frecuencia de las espigas interictales; b) el efecto de la naloxona en el modelo de epilepsia; c) los cambios en la organización del sueño provocados por la penicilina más naloxona; y d) los cambios en la organización del sueño inducidos por la naloxona.

Al terminar la manipulación experimental con cada animal, se realizó la verificación de los sitios cerebrales de los electrodos subcorticales usando la técnica del procedimiento rápido (20).

RESULTADOS

La localización de la microinyección de penicilina en los núcleos amigdalinos se muestra en

CUADRO 1
Núcleos estimulados por la aplicación de la penicilina G sódica y las coordenadas estereotáxicas en cada gato

Gato	AP (mm)*	Núcleo estimulado*
PC-12	A 11.5	Nucleus amygdalae lateralis
PC-13	A 9.5	Nucleus amygdalae centralis
PC-14	A 10.5	Nucleus amygdalae lateralis
PC-15	A 10.5	Nucleus amygdalae basalis
PC-16	A 12.5	Nucleus amygdalae basalis
PC-18	A 10.0	Nucleus amygdalae centralis

* Según Snider RS y Niemer WT: *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*, University of Chicago Press, Chicago II, 1961

CUADRO 2
Número de registros de 23 horas de la actividad eléctrica cerebral obtenidos en diferentes situaciones experimentales: 28 en condiciones control, grupo I; 40 con la administración tópica de Pn sola, grupo II; 20 con Pn más naloxona, grupo III; 8 con naloxona sola, grupo IV

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
PC-12	5	10	5	
PC-13	5	10	5	
PC-14	5	10	5	
PC-15	5	10	5	
PC-16	4			4
PC-18	4			4

el cuadro 1. Se obtuvieron 96 registros de la actividad eléctrica cerebral en cuatro diferentes situaciones experimentales en un total de seis gatos: a) en el grupo I se hicieron 28 registros, en que los animales experimentales funcionaron como sus propios controles; b) en el grupo II se llevaron 40 registros; c) en el grupo III se hicieron 20 registros; y d) en el grupo IV se llevaron 8 registros; la manipulación experimental se muestra en el cuadro 2.

En los registros del EEG en el grupo I, la aplicación tópica de solución salina en AM no causó cambios en la actividad eléctrica EEG ni en la conducta. En el grupo II se observó una

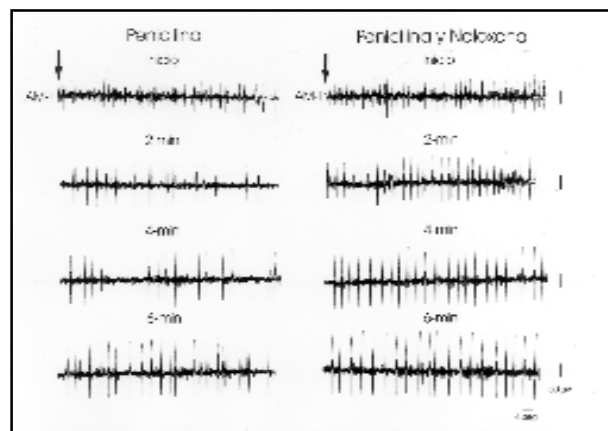


Figura 1. Se muestra la actividad eléctrica de la amígdala izquierda (AM-I) del lóbulo temporal en vigilia después de la inyección de penicilina intra-amigdalina (50 μ l/1 μ l); la flecha indica el momento de la inyección en el inicio del registro, penicilina más naloxona (1 mg/kg IP). Nótese que la aparición de la actividad se facilita en amplitud y frecuencia con la penicilina más naloxona.

latencia de aparición de las espigas de 20-30 segundos, una amplitud de 20-50 μ V y una frecuencia media de 15 espigas en 60 segundos (figura 1), llegando a estabilizarse alrededor de 25 minutos después de la Pn. En grupo III, la actividad EEG mostró la aparición inmediata de espigas y una facilitación (en el orden de amplitud y frecuencia) con una amplitud que varió entre 71-175 μ V y una frecuencia media de 23 espigas en 120 segundos (figura 1), estabilizándose entre 10-15 minutos después de la Pn. En algunas ocasiones, la actividad eléctrica evolucionó hasta crisis focales y/o crisis convulsivas generalizadas. En el grupo IV se observó en el EEG una desincronización prolongada caracterizada por un aumento de la vigilia.

CUADRO 3
Análisis estadístico de las fases del sueño durante el control grupo I (C), el efecto de la Pn sola en amígdala grupo II (Pn) y Pn en amígdala más naloxona IP grupo III (Pn+N) en el registro de 23 horas, sueño-vigilia, vigilia (V), sueño de ondas lentas I (SOL-I), sueño de ondas lentas II (SOL-II) y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR)

Estadios de sueño	Número de estadios	Tiempo total (min)	Duración promedio (min)	Porcentaje	Latencia (min)
V	C	91.8 \pm 6.09	349.6 \pm 27.11	3.9 \pm 0.2	25.3 \pm 2.0
	Pn	65.9 \pm 5.21	270.3 \pm 25.37	4.5 \pm 0.4	19.6 \pm 1.8
	Pn+N	60.2 \pm 5.19*	274.7 \pm 19.87	4.9 \pm 0.4	19.9 \pm 1.4
SOL-I	C	169.2 \pm 7.43	292.0 \pm 13.87	1.8 \pm 0.1	12.6 \pm 1.79
	Pn	152.3 \pm 8.34	213.5 \pm 11.01	1.5 \pm 0.1	12.4 \pm 7.65
	Pn+N	138.5 \pm 8.68*	231.6 \pm 12.42*	1.7 \pm 0.04	13.8 \pm 2.33
SOL-II	C	122.6 \pm 5.77	580.0 \pm 26.94	4.9 \pm 0.3	30.8 \pm 4.85
	Pn	132.3 \pm 6.04	718.4 \pm 29.66	5.7 \pm 0.4	21.5 \pm 7.92
	Pn+N	122.7 \pm 5.3	702.6 \pm 15.01*	5.9 \pm 0.4*	29.2 \pm 4.41
MOR	C	31.0 \pm 1.83	158.4 \pm 7.00	5.3 \pm 0.2	113.1 \pm 14.6
	Pn	35.4 \pm 2.48	117.8 \pm 12.64	5.2 \pm 0.3	152.4 \pm 17.4*
	Pn+N	37.4 \pm 1.59*	171.0 \pm 7.03	4.7 \pm 0.2*	116.4 \pm 13.8

Los datos están expresados como la media \pm error estándar. Control (C n=20 registros, penicilina (Pn) n=20 registros, penicilina más Naloxona (Pn+N) n=20.

* P<0.05; (prueba t-student de dos colas Pn+N Vs C, Pn).

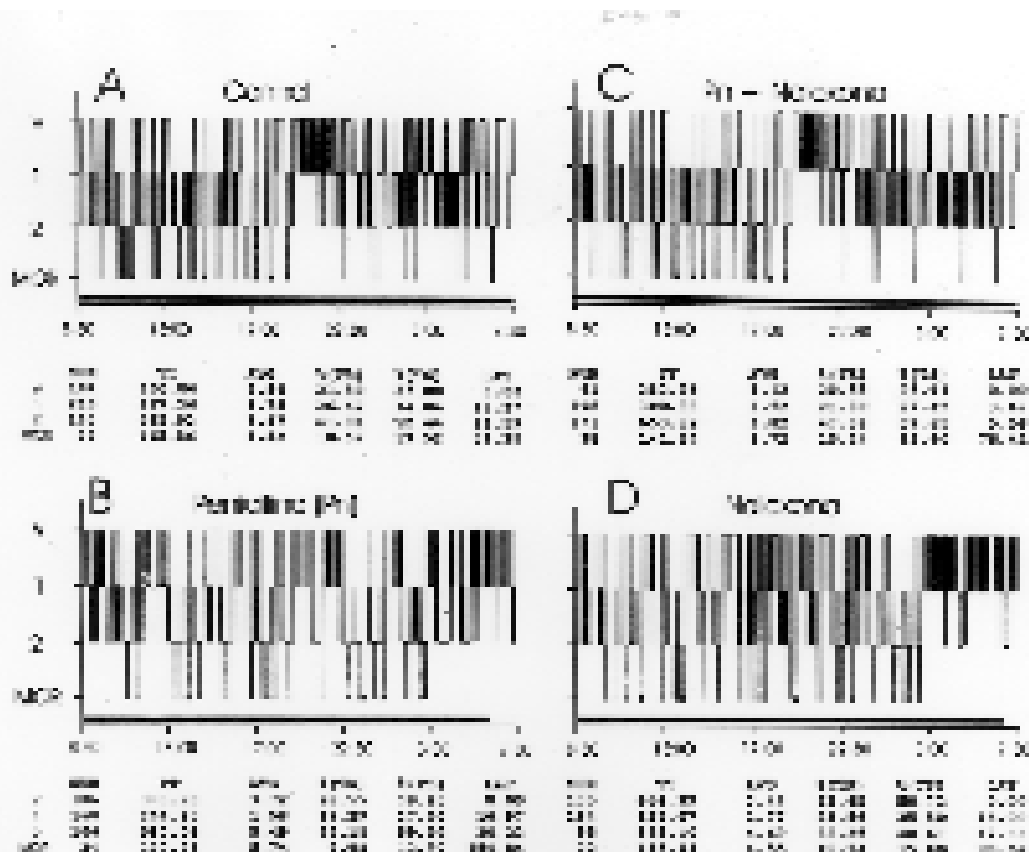


Figura 2. Ejemplos de polisomnogramas en que se observa la ocurrencia de las fases de sueño en registros de 23 horas en diferentes situaciones experimentales. En las ordenadas, las letras del polisomnograma nos indican la vigilia (V), el sueño de ondas lentas I (1), el sueño de ondas lentas II (2) y el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). En las abscisas, los números representan la hora del día durante el registro. La barra negra paralela a las abscisas representa el tiempo de análisis que corresponde a 1380 min, de las 8:30 a.m. a las 7:30 a.m. del otro día. Nótese el aumento en la latencia del primer sueño MOR por la penicilina sola en B; la disminución de la latencia del primer sueño MOR por la Pn más naloxona

En la organización del ciclo sueño-vigilia en el grupo III, se encontraron cambios significativos. En la vigilia y SOL-I hay disminución del número de estadios; en el SOL-I hay disminución en el tiempo total; en el SOL-II hay un aumento en la duración y tiempo total; y en la latencia del sueño MOR hay una disminución. Estos datos se muestran en el cuadro 3 y en las figuras 3 y 4. En el grupo IV no se encontraron cambios significativos, pero se observó un aumento de la vigilia, una disminución del SOL-I,

del SOL-II y del sueño MOR. Estos datos se muestran en el cuadro 4 y la figura 4.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados sugieren que la acción inhibitoria de la naloxona en la liberación de los opioides endógenos inducida por la penicilina en la amígdala surge un efecto sobre la actividad EEG, en la epilepsia y en el sueño.

CUADRO 4

Análisis estadístico de las fases del sueño durante el control grupo I (C), el efecto de la naloxona IP grupo IV (N) en el registro de 23 horas; abreviaturas como en el cuadro 3

Estadios de sueño	Número de estadios	Tiempo total (min)	Duración promedio (min)	Porcentaje	Latencia (min)
V C	71.0±10.1	255.5±22.16	3.9±0.3	18.5±1.6	
N	100.4±6.64	332.4±32.3	3.3±0.2	24.1±2.3	
SOL-I C	160.8±16.4	274.1±22.9	1.8±0.1	19.9±1.7	9.9±2.01
N	168.4±7.28	330.3±15.44	2.0±0.1	24.0±1.1	15.1±3.07
SOL-II C	131.9±11.1	675.4±31.24	5.5±0.6	49.0±2.3	24.3±6.33
N	108.5±4.56	570.6±32.26	5.3±0.3	41.4±2.3	33.1±5.8
MOR C	37.0±3.36	175.0±11.1	5.0±0.5	12.7±0.8	79.0±15.1
N	27.0±2.12	146.0±14.2	5.4±0.4	10.6±1.0	110.5±18.8

Los datos se expresan como la media ± error estándar. Control (C) y Naloxona sola (N), la n=8 registros (prueba t-student de dos colas C versus N).

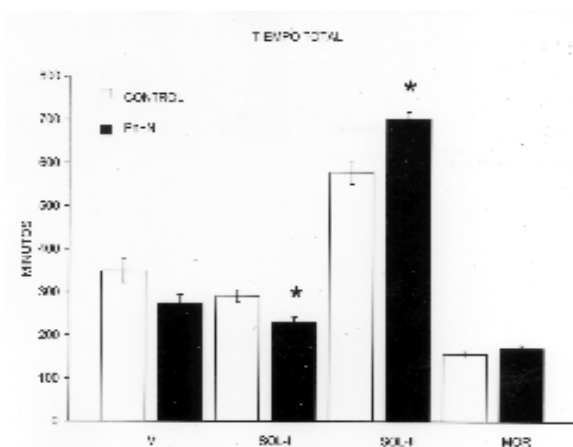


Figura 3. Tiempo total de las fases de sueño en minutos; abreviaturas como figura 2. Obsérvese que el SOL-II aumenta a causa de una disminución de la vigilia y SOL-I. Los datos se expresan como la media \pm error estándar. C Control n=20 registros en nueve gatos. PN+naloxona penicilina más naloxona, grupo experimental Pn 50 UI más naloxona (1mg/kg IP) n=20 en cuatro gatos. * $P<0.05$; (prueba t-student de dos colas C vs P-N, P vs P-N).

En la actividad EEG se observó un aumento progresivo de la amplitud y frecuencia de la posdescarga amigdalina por la naloxona, similar al obtenido en otros modelos de epilepsia como el *kindling* (14, 31), las crisis audiogénicas (34) y las crisis inducidas por 4-AP (24). En la epilepsia, los opioides participan en la conducta de la fase postictal de la crisis convulsiva generalizada (9, 12), efecto inhibido por la naloxona (27). Además, durante la fase postictal se activa un mecanismo depresor similar al sueño MOR (14). El efecto antiepiléptico que presentan los opioides endógenos se debe principalmente a los receptores del tipo delta (38).

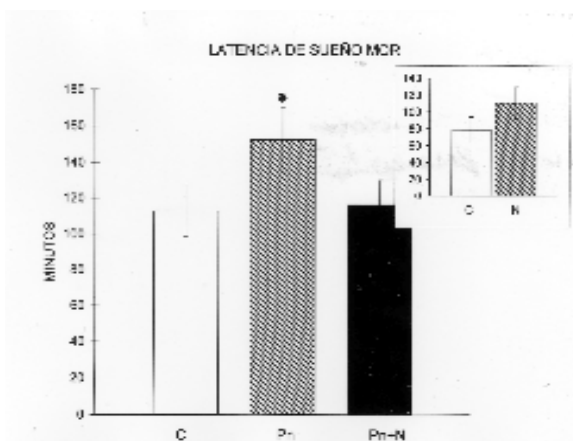


Figura 4. Latencia del sueño MOR en minutos. Control (C), penicilina sola (P), penicilina más naloxona (Pn+N) y naloxona (N). * $P<0.05$; (prueba t-student de dos colas C vs. P y P vs. Pn+N), y en el recuadro (prueba t-student de dos colas C vs. N).

Un hecho relevante de estos experimentos es la disminución de la latencia del primer sueño MOR por el pretratamiento con naloxona (23) cuando éste ha sido desplazado por la penicilina en amígdala, debido a que la Pn sola induce una liberación de opioides (2) y ejerce un efecto inhibitorio sobre la instalación del sueño MOR. Este hecho lo han confirmado otros estudios que demuestran la inhibición del sueño MOR por opioides en modelos experimentales (6, 9, 25, 26).

Otro dato relevante es el aumento del tiempo total del SOL-II, acompañado por una disminución del SOL-I. El resultado anterior es apoyado por estudios que demuestran el efecto de los opioides sobre el sueño de ondas lentas (1, 7, 22, 32). Probablemente este efecto se debe a que la facilitación de la posdescarga (en amplitud y frecuencia) genera la sincronización cortical que inicia en la amígdala y se propaga por vías tálamicas a la corteza.

Se sugiere también un papel activo de los receptores mu y delta del sistema límbico en la generación del despertar y del insomnio relacionados con el estrés provocado por la privación de sueño (13), semejante a lo que reporta el presente trabajo.

No podemos descartar el mecanismo mediado por GABA, debido a que la inhibición generada por la aplicación de Pn sobre el receptor GABA también es bloqueada parcialmente por la naloxona (11). En la interacción GABA-opioides durante el efecto antiepiléptico se ha demostrado que la presencia de Met 5-enkefalina bloquea el transporte activo del GABA a través de la membrana, efecto revertido por la naloxona (10). Asimismo, efectos indirectos por la administración de agonistas y antagonistas de los opioides endógenos se asocian a una activación del receptor GABA/Benzodiacepina (32), resultados que sugieren la interacción del receptor opioide del tipo delta con el transporte de GABA. Esto último prolonga el tiempo fuera de la célula y su acción sobre sus receptores así como el efecto inhibitorio, efecto comprobado por la actividad interictal inducida por la penicilina.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo en la realización de este proyecto a INP (SSA) 3220, DGAPA UNAM IN-231999, CONACYT 31771-N y PUIS UNAM. Agradecemos la ayuda para realizar el análisis estadístico a Edith López y Germán Vega; el apoyo técnico de Alfredo Martínez,

Alejandro Rubio y Bernardo Contreras, las ilustraciones de Raúl Cardoso y José Luis Calderón, y la revisión final del manuscrito a cargo de Patricia de Gortari.

REFERENCIAS

1. ALBUS K, HERZ A: Inhibition of behavioural and EEG activation induced by morphine acting on lower brain stem structures. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 33:579-590, 1972.
2. ASAI M, MARTINEZ A, FERNANDEZ-MAS R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Penicillin-G induced interictal activity increases both opioid peptide tissue content and release in the rat brain. *Neuropeptides*, 29:163-170, 1995.
3. AVOLI M: GABA-Mediated synchronous potentials and seizure generation. *Epilepsia*, 37:1035-1042, 1996.
4. CALVO JM, FERNANDEZ-MAS R: Amygdaloid kindling during wakefulness and paradoxical sleep in the cat. 2. Sleep organization changes produced by kindling. *Epilepsy Res*, 9:175-183, 1991.
5. CALDECOTT-HAZARD S, SHAVIT Y, ACKERMANN R F, ENGEL J Jr, FREDERICKSON R C, LIEBESKIND J C: Behavioral and electrographic effects of opioids on kindled seizures in rats. *Brain Res*, 251:327-333, 1982.
6. CAPECE M L, BAGHDOYAN H A, LYDIC R: Opioids activate g proteins in REM sleep-related brain stem nuclei of rat. *NeuroReport*, 9:3025-3028, 1998.
7. CORPAS I, DE ANDRES I: Morphine effects in brainstem-transected cats: I. EEG and 'sleep-wakefulness' in the isolated forebrain. *Behav Brain Res*, 44:11-19, 1991.
8. COTTRELL G A, NYAKAS C, BOHUS B: Hippocampal kindling-induced after-discharge and behavioural depression: immediate and long-term attenuation by opiate antagonists. *Eur J Pharmacol*, 150:1-8, 1988.
9. CRONIN A, KEIFER J C, BAGHDOYAN H A, LYDIC R: Opioid inhibition of rapid eye movement sleep by a specific mu receptor agonist. *Br J Anaesth*, 74:188-192, 1995.
10. CUPELLO A, HYDEN H: On the presence of Met-5-enkephalin receptors on the plasma membrane of Deiter's neurons and their modulation of GABA transport. *J Neuroscience Res*, 6:579-583, 1981.
11. DINGLEDINER I, IVERSEN L L, BREUKER E: Naloxone as a GABA antagonist: evidence from iontophoretic, receptor binding and convulsant studies. *Eur J Pharmacol*, 47:19-27, 1978.
12. ENGEL J Jr, WOLFSON L, BROWN L: Anatomical correlates of electrical and behavioral events related to amygdaloid kindling. *Ann Neurol*, 3:538-544, 1978.
13. FADDA P, TORTORELLA A, FRATTA W: Sleep deprivation decreases mu and delta opioid receptor binding in the rat limbic system. *Neurosci Lett*, 129:315-317, 1991.
14. FERNANDEZ-GUARDIOLA A, CONTRERAS C M, GONZALEZ-ESTRADA M T: Red nucleus multineuronal activity during the propagation and extinction of tonic-clonic generalized seizures. *Bol Est Med Biol (Méx)*, 28:265-271, 1975.
15. FERNANDEZ-GUARDIOLA A, ROCHA L, PELLI-CER F, GUTIERREZ R, CALVO JM: Massed amygdaloid kindling in encéphale isolé cats: its facilitation by naloxone. *Epilepsy Res*, 4:55-62, 1989.
16. FERNANDEZ-GUARDIOLA A, MARTINEZ A, GUTIERREZ R, FERNANDEZ-MAS R: Amygdaline penicillin focus replicates and modulates electrical amygdaloid kindling in the cat. *Proc West Pharmacol Soc*, 43:219-222, 1991.
17. 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.
18. GARZON M, TEJERO S, BENEITEZ M, DE ANDRES I: Opiate microinjections in the *locus coeruleus* area of the cat enhance slow wave sleep. *Neuropeptides*, 29:229-239, 1995.
19. GLOOR P, QUESNEY L F, ZUMSTEIN H: Pathophysiology of generalized penicillin epilepsy in the cat: the role of cortical and subcortical structures. II. Topical application of penicillin to the cerebral cortex and to subcortical structures. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 43:79-94, 1977.
20. GUZMÁN-FLORES C, ALCARAZ M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol Est Med Biol (Méx)*, 16:29-31, 1958.
21. IADAROLA M J, FLORES C M, YANG H Y T: Release [met5]-enkephalin-arg6-gly7-leu8 immunoreactivity into rat cerebrospinal fluid by electroconvulsive shock. *Biochem Pharmacol*, 36:801-802, 1987.
22. KAY D C, EISENSTEN R B, JASINSKI D R: Morphine effects on human REM state, waking state, NREM sleep. *Psychopharmacologia (Berlin)*, 14:404-416, 1969.
23. MARTINEZ A, FERNANDEZ-MAS R, VALDES A, MAGDALENO V, SANCHEZ R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Efecto de la naloxona sobre un modelo de epilepsia experimental y la organización del sueño en el gato: polisomnogramas de 23 horas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, Resumen C130, 1995.
24. MIHALY A, BENCSIK K, SOLYMOSI T: Naltrexone potentiates 4-aminopyridine in the rat. *J Neural Transm*, 79:59-67, 1990.
25. MING-CHU X, RONG-HUAN L, YAMUY J, MORALES F R, CHASE M H: Naloxone reduces the amplitude of IPSPs evoked in lumbar motoneurons by reticular stimulation during carbachol-induced inhibition. *Brain Res*, 819:155-159, 1999.
26. MORTAZAVI S, THOMPSON J, BAGHDOYAN H A, LYDIC R: Fentanyl and morphine, but not remifentanyl, inhibit acetylcholine release in pontine regions modulating arousal. *Anesthesiology*, 90:1070-1077, 1999.
27. PELLICER F, ROCHA L, GUTIERREZ R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Epileptogenesis and muscular hypertonic post-ictal phenomena induced by naloxone in intact cats. *Epilepsia*, 29:374-378, 1988.
28. POST M N, PUTMAN F, CONTEL N R, GOLDMAN B: Electroconvulsive seizures inhibit kindling: implications for mechanisms of action in affective illness. *Epilepsia*, 25:234-239, 1984.
29. RAOL H Y, METI B L: Sleep-Wakefulness alterations in amygdala-kindled rats. *Epilepsia*, 39:1133-1137, 1998.
30. REINOSO-BARBERO F, DE ANDRES I: Effects of opioid microinjections in the nucleus of the solitary tract on the sleep-wakefulness cycle states in cats. *Anesthesiology*, 82:144-152, 1995.
31. ROCHA L, ACKERMANN R F, CHUGANI H T, ENGEL J Jr: Chronic pretreatment naloxone with modifies benzodiazepine receptor binding in amygdaloid kindled rats. *Epilepsy Res*, 17:135-142, 1994.
32. ROCHA L, TATSUKAWA K, CHUGANI H T, ENGEL J Jr: Benzodiazepine receptor binding following chronic treatment with naloxone, morphine and Met-enkephalin

- in normal rats. *Brain Res*, 612:247-252, 1993.
33. ROSENBERG-ADAMSEN S, KEHLET H, DODDS C, ROSENBERG J: Postoperative sleep disturbances: mechanisms and clinical implications. *Br J Anaesth*, 76:52-61, 1990.
 34. SCHREIBER R: The effect of naloxone on audiogenic seizures. *Psychopharmacology*, 66:205-206, 1979.
 35. SNIDER R S, NIEMER W T: *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*, University of Chicago Press, Chicago, 1961.
 36. STONE W S, EGGLETON C E, BERMAN R F: Opiate modification of amygdaloid-kindled seizures in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 16:751-756, 1982.
 37. TALAVERA E, OMAÑA-ZAPATA I, ASAI M, CONDESLARA M: Regional brain IR-Met-, IR-Leu-enkephalin concentrations during progress and full electrical amygdaloid kindling. *Brain Res*, 485:141-148, 1989.
 38. TORTELLA F C, LONG J B: Characterization of opioid peptide-like anticonvulsant activity in rat cerebrospinal fluid. *Brain Res*, 456:139-146, 1988.
 39. URSIN R, STERMAN M B: *A Manual for Standardized Scoring of Sleep and Waking States in the Adult Cat*. University of California, Brain Information Service/Brain Research Institute, Los Angeles, 1981.
 40. VINDROLA O, BRIONES R, ASAI M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Amygdaloid kindling enhances the enkephalin content in the rat brain. *Neurosci Lett*, 21:39-43, 1981.