

# Efecto de la estimulación vagal sobre los cambios inducidos por la epilepsia en la organización temporal del sueño en el gato

Adrián Martínez<sup>1,2</sup>

Artículo original

## SUMMARY

Clinical and experimental observations have demonstrated a relationship between epilepsy and sleep. During slow wave sleep (SWS), facilitation of the epileptic activity has been observed, as well as an inhibition of this activity during the rapid eye movement (REM) stage. On the other hand, during epileptic seizures, sleep inhibition is manifest, but when epileptic activity is present without seizures, an increase in cortical synchronization is encountered. Vagus nerve electrical stimulation (VNS) induces synchronization or desynchronization of cortical activity depending on the stimulation parameters. We have described an inhibition of generalized convulsive activity induced either by electrical (kindling) or chemical (penicillin) stimulation of the temporal lobe amygdala. It has also been demonstrated that VNS induces ponto-genicul-occipital activity thus suggesting that VNS exerts an influence on epilepsy and sleep.

The aim of this study was to analyze the effect of chronic electrical stimulation of the vagus nerve on epilepsy-induced changes in the temporal organization of sleep and wakefulness stages.

Ten male cats were stereotactically implanted to record conventional sleep. In addition, a bipolar stainless steel electrode bound to a cannula was directed to the central nucleus of the temporal lobe amygdala. Finally, a bipolar hook stainless steel electrode was fixed on the left vagus nerve at the level of the larynx. One microliter of saline solution containing 100 IU of sodium penicillin G (Pn) was injected into the amygdala to induce an epileptic state. The left vagus nerve was stimulated with 30-s impulses in an hour, five times a day; subsequently brain electrical activity was recorded for 8 hours.

The Pn injection elicited interictal spikes and changes in the temporal organization of sleep and wakefulness stages. The temporal organization of these stages exhibited the following variations: a) increase in the number of phases during wakefulness, b) increment in the number of phases during SWS-I and a diminution in the mean duration of this phase, c) SWS-II total time was increased as well as its percentage, d) latency of REM sleep increased, whereas the number of phases and the total time of this phase decreased. VNS in presence of Pn produced the following changes: a) increase in the latency of the appearance of spikes in 88%, and b) reduction of spike frequency in 40%. With regard to the temporal organization of sleep and wakefulness stages, we observed: a) decrease in the number and total time of SWS-I and SWS-II phases and b) diminution in the latency of onset of the first REM sleep.

VNS reverted REM sleep inhibition induced by epilepsy, as well as caused increase in wakefulness and decrease in cortical synchronization and interictal epileptic activity. These effects suggest inactivation of areas that induce REM sleep and also of areas that induce the generalization of epileptic activity localized in brain stem, which send their projections to the anterior brain. With respect to the decrease in both cortical synchronization and somnolence, this might be due to the inhibition, via the solitary tract and locus coeruleus nuclei, of thalamic areas (reticular nucleus), which generate the cortical synchronization. The increase in wakefulness may be due to VNS activation of the basalis nucleus (this pathway originates in the brain stem), which is a system that regulates awake and attention behaviors by its projections, which traverse the thalamic nuclei and connect to the cerebral cortex.

**Key words:** Vagus nerve, amygdala, penicillin, epilepsy, sleep.

## RESUMEN

Por las observaciones clínicas y experimentales se sabe que hay una relación entre la epilepsia y el sueño. Se describe durante el sueño de ondas lentas (SOL) una facilitación de la actividad epiléptica y una inhibición durante el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). A su vez, durante las crisis epilépticas se observa una inhibición del sueño y cuando no hay crisis, y sólo se registra actividad epiléptica, se observa un aumento en la sincronización cortical. La estimulación eléctrica del nervio vago (ENV) induce sincronización y desincronización de la actividad cortical según los parámetros de estimulación. Hemos descrito una inhibición de la actividad convulsiva generalizada inducida por la estimulación eléctrica (*kindling*) y química (penicilina) en la amígdala del lóbulo temporal. También se ha demostrado que la ENV induce la actividad ponto-genicul-occipital (PGO), por lo que se deduce que la ENV tiene influencia tanto en la epilepsia como en el sueño. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la estimulación eléctrica crónica del nervio vago sobre los cambios que induce la epilepsia en la organización temporal del sueño y la vigilia.

Se implantaron estereotácticamente a 10 gatos machos para registro convencional de sueño y se introdujo una cánula unida a un electrodo bipolar dirigida hacia el núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal. Se colocó además un electrodo en forma de horquilla en el nervio vago izquierdo a nivel de la laringe. Se aplicaron en un microlitro de solución salina, 100 unidades internacionales (UI)

<sup>1</sup> Dirección de Investigación en Neurociencias. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

<sup>2</sup> Facultad de Estudios Superiores "Aragón", UNAM.

Correspondencia: Adrián Martínez Cervantes, Dirección de Investigación en Neurociencias. INPRFM. Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, 14370, México, DF. E.mail: adrianmc@imp.edu.mx

Recibido primera versión: 12 de septiembre de 2011. Aceptado: 28 de octubre de 2011.

de penicilina G sódica (Pn) en la amígdala del lóbulo temporal para inducir la epilepsia. Se estimuló eléctricamente el nervio vago (ENV) izquierdo durante 30 segundos cada hora. En total se aplicaron cinco estimulaciones al día y se registró la actividad eléctrica cerebral durante ocho horas.

La Pn produjo espigas interictales y cambios en la organización temporal de las fases del sueño y la vigilia.

En la organización temporal de las fases del sueño y la vigilia con la Pn se observó: a) la vigilia aumentó el número de fases, b) el SOL-I aumentó el número de fases y disminuyó la duración promedio de la fase, c) el SOL-II aumentó el tiempo total de la fase así como su porcentaje, d) el sueño MOR aumentó la latencia y disminuyó el número de fases así como el tiempo total de la fase. Con la ENV en presencia de la Pn se observó: a) un aumento en la latencia de aparición de espigas en un 88% y b) una reducción en la frecuencia de las mismas en un 40%. En la organización temporal de las fases del sueño y la vigilia se observó: a) una disminución del número y del tiempo total de las fases del SOL I-II y b) una disminución en la latencia de aparición del primer sueño MOR.

## INTRODUCCIÓN

Los mecanismos subyacentes al efecto de la estimulación eléctrica del nervio vago sobre la actividad epiléptica no son del todo conocidos y éstos se empiezan a conocer analizando la ENV en humanos<sup>1-4</sup> y en modelos experimentales.<sup>5-8</sup> En éstos se ha observado que la ENV induce sincronización<sup>9-14</sup> o desincronización del electroencefalograma (EEG)<sup>15-17</sup> según los parámetros de estimulación.

La sincronización cortical es considerada como una respuesta inherente al arreglo neuronal cortical. El sueño y la epilepsia son dos tipos de actividad sincrónica y se ha sugerido que comparten el mismo sitio para la generación de la sincronización: el núcleo reticular del tálamo. Se describen dos partes funcionales diferentes: una para generar los husos<sup>18-20</sup> y otra para la génesis de la epilepsia de ausencia, secundariamente generalizada.<sup>21</sup> Se atribuyen a estos dos tipos de actividad sincrónica una cualidad inhibitoria.<sup>22-24</sup>

Se ha descrito además que el núcleo del tracto solitario también influye sobre estos dos procesos debido a que la estimulación eléctrica induce una inhibición de la epilepsia,<sup>25</sup> y que la estimulación química induce sueño de ondas lentas (SOL).<sup>26</sup>

En cuanto a la desincronización del EEG, ésta se ha aceptado desde que se propuso el "sistema reticular de activación ascendente",<sup>27</sup> comprobándose mediante la inactivación del NTS por diferentes procedimientos<sup>28-31</sup> una desincronización cortical asociada a un despertar. Se ha demostrado que la parte bulbar del tallo cerebral ejerce una inhibición sobre su parte rostral,<sup>32</sup> y que cuando las vías inhibitorias ascendentes bulbares-mesencefálicas son interrumpidas por lesiones mediotontinas, los animales muestran signos electrográficos y conductuales de vigilancia.<sup>33</sup> Este efecto ha sido interpretado como la liberación del sistema activador ascendente del tallo cerebral de las influencias inhibitorias de su parte bulbar.<sup>34</sup>

La ENV revirtió la inhibición del sueño MOR inducida por la epilepsia, aumentó la vigilia, disminuyó la sincronización cortical y la actividad epiléptica interictal. Estos efectos nos sugieren la inactivación de las áreas que inducen la inhibición del sueño MOR y de las áreas que inducen la generalización de la actividad epiléptica, localizadas en el tallo cerebral y que envían proyecciones hacia el cerebro anterior. Con respecto a la disminución de la sincronización cortical, la reducción de la somnolencia se debería probablemente a la inhibición vía el núcleo del tracto solitario (NTS)-*locus coeruleus* hacia las áreas del tálamo (núcleo reticular) que generan la sincronización cortical. El aumento de la vigilia se debería a que la ENV activa al núcleo *basalis* (vía que se origina en el tallo cerebral), que es un sistema que regula la conducta de vigilia y atención por medio de sus proyecciones a través de los núcleos del tálamo y que se conectan a la corteza cerebral.

**Palabras clave:** Nervio vago, amígdala, penicilina, epilepsia, sueño.

Las observaciones clínicas y experimentales sugieren una íntima relación entre la epilepsia y el sueño,<sup>35-37</sup> como procesos de sincronización y desincronización de ritmos cerebrales corticales y por ello planteamos como el objetivo del presente trabajo analizar la estimulación eléctrica crónica del nervio vago sobre los cambios en la organización temporal del sueño y la vigilia inducidos por un foco penicilínico amigdalino.

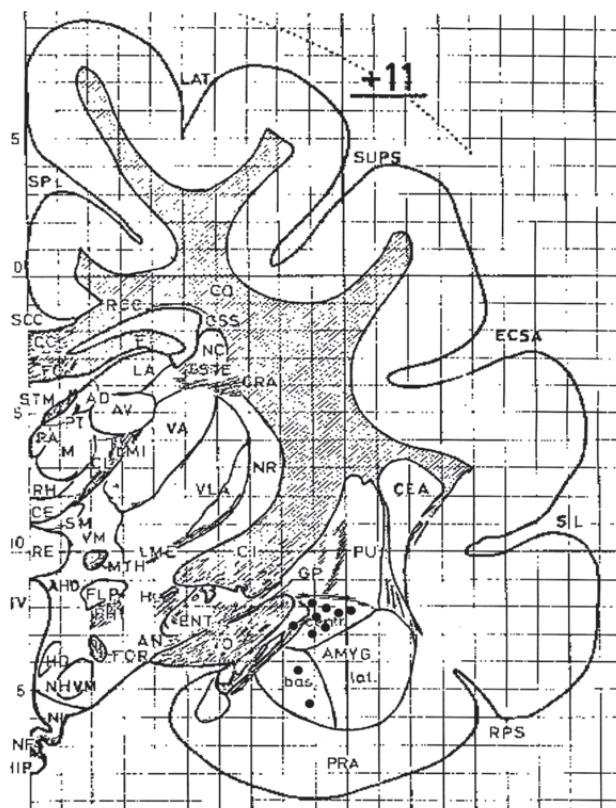
## MÉTODO

Los experimentos se realizaron bajo las especificaciones emitidas por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Se implantaron para registro convencional de sueño 10 gatos machos con un peso de entre 3.0 y 4.5 kg. La cirugía se realizó en condiciones asépticas, bajo anestesia con pentobarbital sódico (33mg/kg i.v.); los electrodos bipolares de acero inoxidable se dirigieron siguiendo coordenadas estereotáxicas<sup>38</sup> hacia cada una de las amígdalas del lóbulo temporal y a cada uno de los cuerpos geniculados laterales. El electrodo dirigido hacia la amígdala izquierda tenía unido una cánula guía (diámetro 20) de acero inoxidable. Además se implantaron electrodos epidurales en forma de clavo en la corteza prefrontal y electrodos convencionales en los músculos de la nuca. El nervio vago fue disecado caudalmente respecto de la laringe y se implantó un electrodo bipolar en forma de horquilla, de alambre de acero inoxidable (5 mm de separación entre cada punta). Todos los animales tuvieron un periodo de recuperación postoperatorio de 15 días, que sirvió como habituación, en la cámara de registro sonoamortiguada con agua y alimento *ad libitum*. En todos los animales la cánula guía sirvió para liberar 100UI de Pn en 1.0µl de solución salina al 0.9%

por medio de una microjeringa Hamilton. El umbral del estímulo eléctrico para el nervio vago fue determinado repitiendo cada cinco minutos el pulso de 0.5ms de duración y un tren de 30 Hz aumentándose la intensidad (0.2mA) hasta que aparecieran conductas vegetativas. La intensidad de la estimulación varió entre 1.2 y 3.0 mA. Una vez establecido el umbral, el nervio vago se estimuló cinco veces durante un minuto a intervalos de una hora (10:00-14:00 horas). La primera estimulación ocurrió antes de aplicar la Pn.

## PROCEDIMIENTO

Se realizaron registros de ocho horas de duración de la actividad eléctrica cerebral, en cuatro condiciones experimentales. El grupo I, control; el grupo II recibió la Pn; el grupo III recibió la ENV; el grupo IV recibió ENV + Pn, ocurriendo la primera ENV antes de aplicar la Pn. En cada una de las condiciones el registro se inició a las 8:30 am, inmediatamente después de aplicar la ENV. Se describen los estadios conductuales<sup>39</sup> observados en cada manipulación cuando se aplicó la Pn y se produjo la conducta epiléptica.



**Figura 1.** La figura muestra un dibujo esquemático del atlas esferotáxico de Reinoso41 en anterior +11. Marcando con círculos rellenos los sitios estimulados en los núcleos de la amígdala por la aplicación de penicilina en cada gato, la localización anatómica fue obtenida por el método del procedimiento rápido.<sup>40</sup>

Una vez obtenidos los registros de la actividad eléctrica cerebral, éstos se calificaron manualmente,<sup>40</sup> midiendo la duración de cada estadio (vigilia, SOL-I, SOL-II y sueño MOR) y se capturaron manualmente en una PC.

La actividad eléctrica cerebral se obtuvo usando preamplificadores de EEG (Grass 7P511K) colocando el filtro para bajos en 1Hz y el filtro para altas a 100Hz. Los amplificadores tienen un filtro "T" analógico para quitar el ruido residual de los 60Hz de la línea. La salida analógica de los amplificadores se adquirió y se guardó digitalmente en el disco duro de una PC para un análisis posterior más detallado, ya fuera de línea.

Los parámetros EEG considerados fueron la latencia, la amplitud y la frecuencia. Para evaluar los cambios de éstos entre el grupo I y el III *versus* el II y el IV, se aplicó la prueba de "U" Mann-Whitney para grupos independientes.

Para evaluar el efecto de la actividad interictal sobre los estadios del sueño se consideraron las siguientes variables: a) los cambios provocados por la Pn en los grupos II y IV; b) los cambios inducidos por la ENV en el grupo III y c) los cambios provocados por la ENV+Pn en el grupo IV.

El análisis estadístico se realizó aplicando la prueba no paramétrica de rangos "t" de Wilcoxon para grupos relacionados, para evaluar la latencia, el tiempo total y el número de fases de los estadios del sueño entre el grupo I, el II y el IV.

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.<sup>41</sup>

## RESULTADOS

En un esquema de la amígdala del lóbulo temporal,<sup>42</sup> se muestra el sitio de inyección con un círculo, observándose que en dos animales el sitio se localizó en el núcleo basolateral y siete en el núcleo central (figura 1 y cuadro 1). En el cuadro 2 se muestra el número de registros de la actividad

**Cuadro 1.** Indica los sitios de inyección de la penicilina en los núcleos de la amígdala del lóbulo temporal (Snider y Niemer, 1961). También se indica el umbral de la estimulación eléctrica del nervio vago

Nombre sujeto	Umbral	Núcleos
PCNV1	3.0 mA	AP 11.5 Basalis
PCNV2	2.4 mA	AP 11.5 Basalis
PCNV5	2.8 mA	AP 10.0 Centralis
PCNV6	1.8 mA	AP 11.5 Centralis
PCNV7	2.8 mA	AP 10.0 Centralis
PCNV9	1.0 mA	AP 11.5 Centralis
PCNV10	2.0 mA	AP 11.5 Medialis
PCNV11	Sham	AP 10.5 Centralis
PCNV12		AP 9.5 Centralis
PCNV17		AP 9.5 medialis-Optic Tract
PCNV18		AP 10.0 Centralis

**Cuadro 2.** Indica el número de registros de la actividad eléctrica cerebral con una duración de ocho horas que se realizaron por sujeto, en cada situación

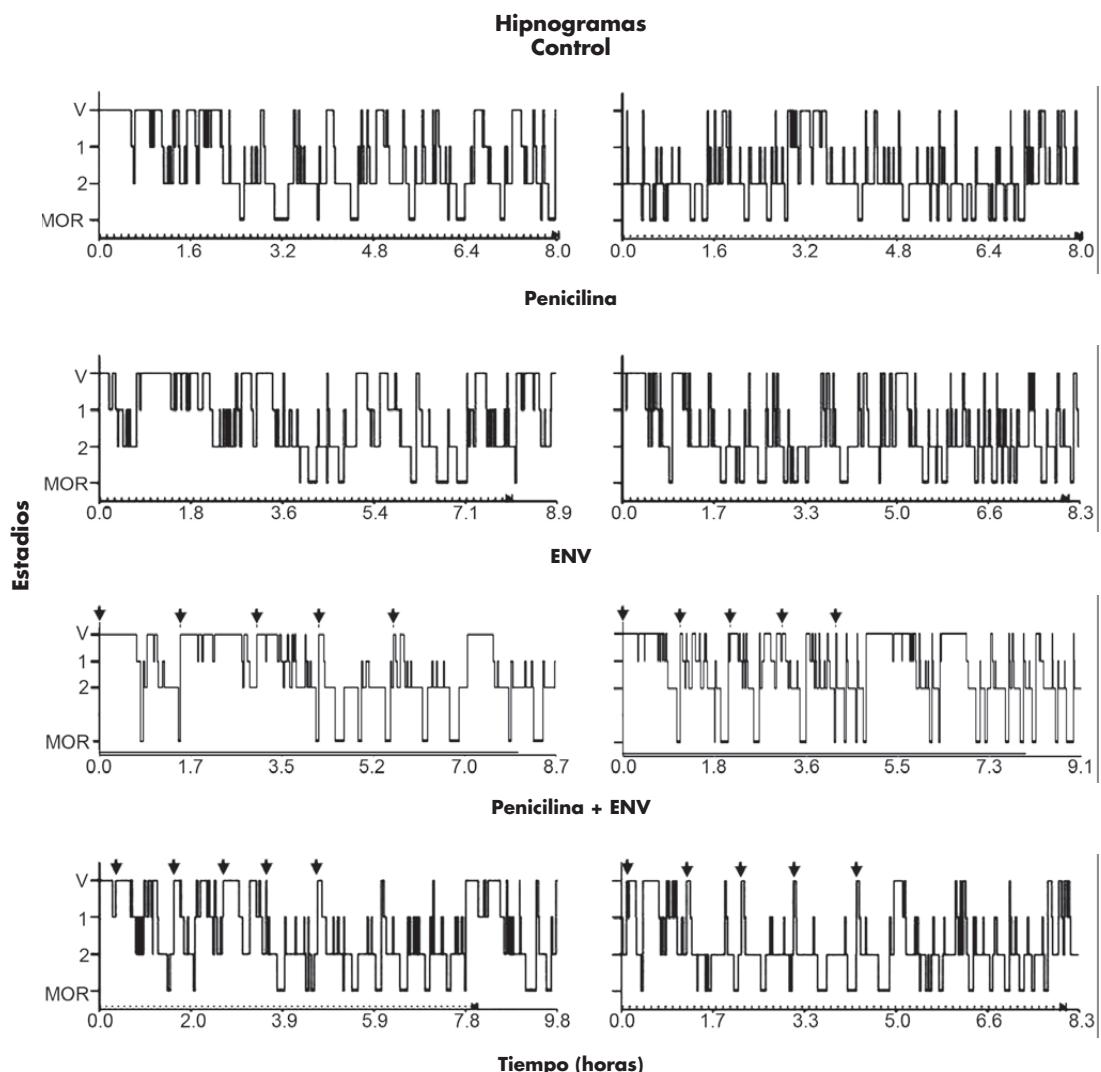
Nombre sujeto	Control (Grupo I)	Pn (Grupo II)	ENV (Grupo III)	ENV + Pn (Grupo IV)
PCNV1	2	6	3	6
PCNV2	2	6	2	6
PCNV5	2	6	5	6
PCNV6	5	4	5	0
PCNV7	4	6	5	6
PCNV9	4	6	2	6
PCNV10	1	4	3	5
PCNV11	2	6		
PCNV12	3	6		
PCNV17	3	7		
PCNV18	2	6		

eléctrica cerebral en cada una de las situaciones que se realizaron por sujeto.

### Efecto de la penicilina

La aplicación tópica de Pn produce espigas interictales con una latencia de  $6.8 \pm 2$  min y su frecuencia media fue de 9.50/30 segundos. La amplitud aumenta progresivamente de 200 a 400  $\mu$ V, estabilizándose entre los 6-9 minutos en los grupos II y IV, no encontrándose una diferencia significativa en la inducción y desarrollo de las espigas entre los núcleos estimulados.

En las áreas registradas se observa el siguiente orden de propagación de las espigas: corteza prefrontal izquierda, corteza prefrontal derecha, en el cuerpo geniculado iz-



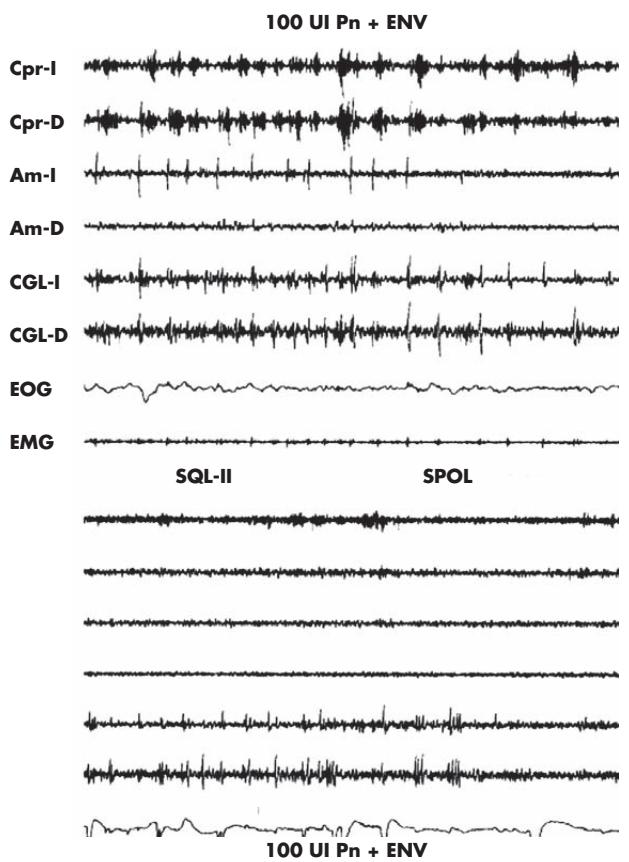
**Figura 2.** Se muestran ejemplos de los hipnogramas de los registros de ocho horas en las cuatro condiciones, las flechas indican el momento de la ENV. Nótese en la condición Pn + ENV cómo se restablecen las fases de sueño bloqueadas por la Pn.

quierdo, en el cuerpo geniculado derecho y, por último, en la amígdala derecha.

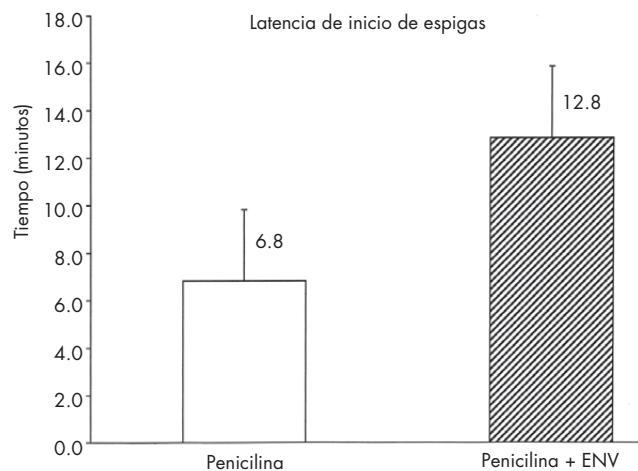
### Efecto de la penicilina sobre el sueño y la vigilia

Se observó lo siguiente en el grupo III: a) la vigilia disminuyó 13% del tiempo total de la fase, b) el SOL-I aumentó un 25% del tiempo total de la fase, c) el SOL-II aumentó 9% del tiempo total de la fase, d) el sueño MOR aumentó la latencia al primer sueño MOR y disminuyó (8%) el número de fases (figura 2), e) durante el sueño MOR se observó una inhibición de la actividad paroxística en todas las áreas registradas ante la ocurrencia de ondas ponto-geniculado-occipitales (figura 3).

En la acumulación por hora de las fases del sueño, se observó que en el inicio del registro aumenta la latencia al primer sueño MOR y una disminución del tiempo total del sueño MOR.



**Figura 3.** Se muestra el EEG en 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/1 $\mu$ l). Nótese que la aparición de SPOL y de sueño MOR con la actividad PGO concomitante, provoca la disminución y desaparición de la actividad paroxística en la amígdala. Abreviaturas Corteza Prefrontal izquierda y derecha: (Cpr-I, D); Amigdalina del Lóbulo Temporal, Izquierda, Derecha: (Am-I, D); Cuerpo Geniculado Lateral, Izquierdo, Derecho: (CGL-I, D); Electrooculograma: (EOG); Electromiograma: (EMG).



**Figura 4.** La gráfica muestra el aumento en la latencia de aparición (este aumento no fue significativo) de las espigas en la Am cuando se aplicó penicilina + ENV en comparación con la penicilina sola.

### Efecto de la ENV sobre la latencia de las espigas

La ENV indujo una latencia de 12.8 minutos en el grupo IV en comparación con el grupo II (su latencia fue de 6.8 minutos) (figura 4). Se observa una diferencia aunque no fue significativa en la aparición de la actividad epileptiforme.

### Efecto de la ENV sobre la conducta

La ENV indujo los siguientes cambios conductuales en los grupos III y IV: lengüeteo, deglución, inmovilidad con la mirada hacia arriba, contracciones abdominales. La presencia del electrodo induce miosis del ojo izquierdo.

### Efecto de la ENV sobre el sueño y la vigilia

En el grupo II, *versus* el grupo I, se observó lo siguiente: a) un aumento de vigilia en 9% del tiempo total de la fase, b) aumento del tiempo total de la fase SOL-I (5%), c) disminución del tiempo total de la fase SOL-II (4%), d) la disminución significativa de la fase de sueño MOR (19%) (cuadro 3).

### Efecto de la ENV sobre la frecuencia de las espigas

En el EEG se observa una disminución de la frecuencia durante la ENV (figura 5). En la comparación entre los grupo II *vs* IV la ENV redujo de manera significativa la frecuencia de las espigas, principalmente en la primera parte del registro, esto es en los primeros 10 minutos, con reducciones de 48% con respecto al control. Asimismo se muestra que al final de los 360 minutos de aplicada la penicilina hay una disminución de alrededor del 63%. En general se mantiene por

**Cuadro 3.** Indica el efecto de la ENV (Grupo II), la Pn (Grupo III) y la ENV + Pn (Grupo IV) sobre las fases del ciclo sueño-vigilia

Tiempo total de la fase del ciclo sueño-vigilia en minutos (media ± desviación estándar)				
	Control Grupo (I)	(ENV) Grupo (II)	(Pn) Grupo (III)	ENV + Pn Grupo (IV)
V	149.9 ± (39.0)	163.6 ± (40.0)	129.9 ± (44)	162.3 ± (62)
SOL I	62.2 ± (9.5)	65.2 ± (14.0)	78.1 ± (18)*	63.2 ± (15)
SOL II	191.5 ± (38.0)	184.1 ± (28.5)	208.2 ± (36)	190.0 ± (43)
MOR	69.0 ± (17.5)	56.2 ± (17.0)*	63.5 ± (16)	64.4 ± (19)

\* p < 0.5 "t" de Wilcoxon SPSS v 11.0.

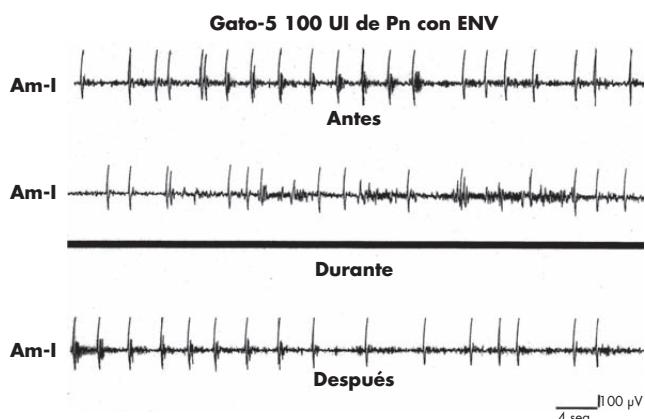
debajo de la frecuencia de la penicilina sola ( $0.32 \pm 0.07$  Hz), cuando se aplica la ENV ( $0.22 \pm 0.07$  Hz) pero sólo es significativo al principio y al final del efecto de Pn (figura 6). Un análisis de la tendencia entre frecuencia de las espigas y el tiempo de la estimulación del NV muestra una disminución de las espigas conforme se estimula el nervio vago (0.38 vs. 0.23 respectivamente) (figura 6).

### Efecto de la ENV sobre el sueño en presencia de Pn

Los cambios observados son los siguientes con el grupo IV versus el grupo II: a) un aumento de la vigilia, b) una disminución en el número de episodios SOL I y II, c) disminución significativa del tiempo total de las fases de SOL I, d) no se observaron cambios en los valores del sueño MOR (figura 2).

### Análisis espectral de la actividad eléctrica

El análisis demostró la aparición de una frecuencia entre 2 y 4Hz y un aumento en la potencia en la amígdala que predominó después de la inyección de penicilina en el control y una disminución cuando se aplicó la ENV, el cual es representado por el eje "Y" en la amígdala. También se observa el inicio de

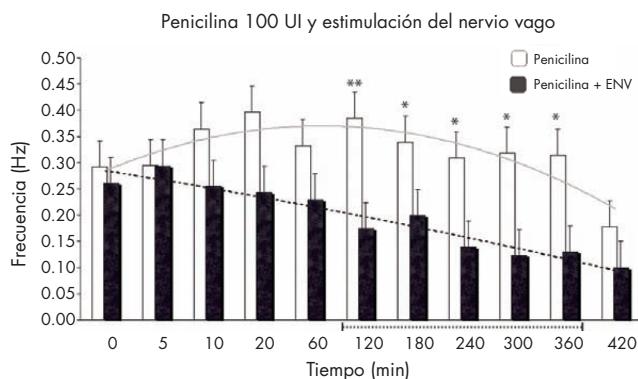


**Figura 5.** Se presenta el registro de la actividad eléctrica de la amígdala en los 30 segundos previos a la ENV, durante 60 segundos e inmediatamente después de ésta. Nótese el decremento en la frecuencia de las espigas durante la ENV.

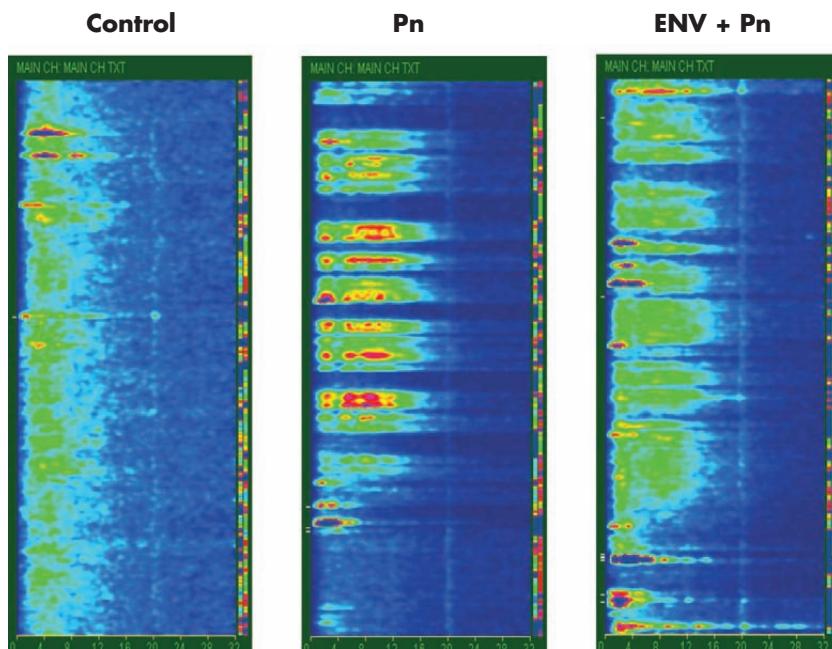
la respuesta neuronal que coincide con la aparición del potencial y el aumento progresivo de la potencia o amplitud en los núcleos registrados, así como la inducción de la frecuencia entre 2 y 4Hz. Este ancho de banda se indujo por la aplicación de la Pn, aumentando su potencia lo que es representado por el color rojo, conforme se instala el evento epiléptico, considerándose esta situación como el control. Con la ENV se produjo la disminución de la potencia de la banda de 6 a 12Hz y una disminución de la frecuencia entre 2 y 4Hz (figura 7).

## DISCUSIÓN

La ENV y la epilepsia afectan por separado las fases del sueño, pero al ser aplicada la ENV en presencia de epilepsia no induce un efecto significativo en el tiempo total de las fases del sueño. No obstante, el estado hipersincrónico de la epilepsia sí se ve afectado por la ENV, que induce la desincronización cortical y provoca la inhibición de la actividad epiléptica.<sup>9,10,12,13,15,16,24,42</sup> El efecto de la ENV aplicada en presencia de epilepsia fue restablecer los valores control del tiempo total de las distintas fases de sueño, evento congruente con su acción antiepileptica. Este efecto se debería a la activación de las regiones cerebrales talámicas e insulares como se ha comprobado en pacientes epilépticos con la ENV



**Figura 6.** Muestra la disminución de frecuencia de las espigas por la ENV mediante las frecuencias acumuladas en dos situaciones; penicilina sola (barras blancas) y penicilina con ENV (barras oscuras), se presenta la línea de tendencia en ambas condiciones. Se señala el lapso de tiempo de las ENVs en minutos en las abscisas. Nótese la disminución de la frecuencia por la ENV.



**Figura 7.** La interpretación del análisis espectral de la actividad eléctrica de la amígdala del lóbulo temporal, es el siguiente: a) el eje X corresponde a la frecuencia de 0-32 Hz; b) el eje Y representa el tiempo continuo del experimento; lo rojo indica la potencia absoluta (voltaje) de cada frecuencia.

usando SPECT<sup>43</sup> y al aumento en el flujo sanguíneo inducido por la ENV, evaluado con PET, que produjo cambios en la actividad sináptica talámica que se asoció al efecto anticonvulsivo.<sup>44</sup> Hay que recordar que la vía de propagación de la actividad paroxística parte de los núcleos amigdalinos hacia los núcleos mediodorsal y medial del tálamo y éstos proyectan hacia la corteza. Como lo han descrito Reardon y Mitrofanis,<sup>45</sup> la parte dorsal del tálamo actúa como una compuerta hacia la neocorteza.

Por otro lado, nuestros resultados no apoyan la hipótesis de P Gloor<sup>46</sup> según la cual las descargas en onda y espiga características de la epilepsia de ausencia pueden desarrollarse por los mismos circuitos tálamo-corticales, los cuales normalmente generan los husos de sueño bajo ciertas condiciones de hiperexcitabilidad.<sup>47</sup> Esto es debido a que la inhibición inducida por la ENV afecta principalmente la actividad paroxística de la corteza cerebral, ya que la ENV no puede inhibir la actividad paroxística del lóbulo temporal. La ENV está interfiriendo con la conectividad cortical que participa en la generación de la espiga cortical<sup>48,49</sup> y con los circuitos tálamo-corticales que generan la sincronización cortical (husos de sueño).<sup>23,50</sup>

Las dos estructuras estudiadas en el presente trabajo, por un lado el nervio vago y por otro la amígdala del lóbulo temporal, están relacionadas anatómicamente entre sí. Además poseen diversos “puntos de cruce” en los núcleos que participan diferencialmente en el sueño.<sup>8,11,43,51-57</sup> El *locus coeruleus*, el NTS y el tálamo, entre otras estructuras, son áreas que guardan relación tanto con el nervio vago como con la amí-

dala. El *locus coeruleus* está relacionado con fases que no implican sincronización cortical y su “inactividad” es necesaria para la instalación del sueño MOR,<sup>58,59</sup> mientras que el tálamo está relacionado en la generación de husos de sueño y sincronía dentro de las fases SOL.<sup>23,50,60-62</sup> En el presente estudio se observó que las estructuras implicadas podrían responder diferencialmente a distintos tipos de eventos separados, uno sincronizante como la epilepsia y otro desincronizante como la ENV, pero que al ser aplicados juntos el efecto desincronizante provocado por la ENV es capaz de reducir la hipersincronización y permitir la aparición de los ritmos cerebrales propios de las fases de sueño como en el control. También se demuestra que la ENV revierte los cambios en las fases de sueño ocasionados por la epilepsia. Sin duda este efecto participa en las primeras ocho horas de un foco agudo en el lóbulo temporal. Además se mostró que por sí sola la ENV también modifica las fases de sueño si se aplica en ausencia de un estado hipersincrónico, observándose un aumento de la vigilia y una disminución del SOL, debido a que la ENV activa las redes tálamo-corticales y córtico-talámicas e inicia el efecto desincronizante en las capas profundas de la corteza vía el núcleo *basalis*,<sup>63</sup> el que a su vez sería estimulado por las proyecciones que nacen del tallo cerebral.<sup>64</sup>

Los cambios en la organización temporal del sueño inducidos por la epilepsia, los revirtió la ENV. Nuestros resultados son similares a los estudios previos en los que se observó una disminución del SOL-I y II y una reducción de la somnolencia por el aumento de la vigilia en la ENV de pacientes epilépticos.<sup>3,65</sup> Asimismo se encontró un aumento en

la frecuencia de los episodios de sueño MOR, lo que sugiere que la ENV puede ser un factor de disparo del sueño MOR ya que se aumenta la duración de los episodios de REM más allá del factor de mantenimiento.<sup>16</sup>

Respecto del efecto de las crisis sobre la organización del sueño, este estudio nos muestra una variación en tiempo total de la fase de SOL-I y sueño MOR. En la comparación del control grupo I y el de Pn grupo III, se observa un aumento SOL-I en un 25% y la diminución del sueño MOR en un 8%. Estos datos son semejantes a los observados en pacientes que padecen epilepsia del lóbulo temporal.<sup>66</sup> Este resultado nos indica cómo la actividad del lóbulo temporal modifica probablemente el rol de la actividad colinérgica en la generación del sueño MOR a nivel del área parabraquial, debido a que el núcleo central de la amígdala, que fue estimulado por la Pn, tiene conexiones directas con el área parabraquial.<sup>67</sup>

El retardo en la aparición de las espigas inducida por la ENV podría estar asociado a una reversión de la actividad GABAérgica en la amígdala, ya que durante la aplicación de la penicilina sola se ha observado una disminución de los niveles de unión de los receptores a benzodiacepinas en la amígdala,<sup>68</sup> efecto que además se reforzaría con las proyecciones, también GABAérgicas, entre el núcleo central de la amígdala y el NTS.<sup>69</sup>

La inhibición de la actividad interictal ha sido reportada por nuestro grupo en dos modelos de epilepsia experimental,<sup>7,8</sup> sugiriéndose que este efecto se deba a que el nervio vago activa, por medio del NTS, los mecanismos noradrenérgicos que tienen lugar en el *locus coeruleus*<sup>70,71</sup> y se difunden hacia la amígdala del lóbulo temporal.<sup>72</sup>

Los mecanismos de acción de la estimulación eléctrica del nervio vago son aún desconocidos. En este estudio la ENV reduce las crisis por la estimulación remota del nervio vago en el lóbulo temporal, lo que está relacionado con el reporte de que en el efecto de la ENV sobre la epilepsia hay una participación de la acetilcolina y los receptores muscarínicos.<sup>14</sup>

## AGRADECIMIENTOS

Por el apoyo recibido en la realización de este trabajo al INPRFM (SSA), proyecto 3220; al CONACYT: 45943-M por el apoyo recibido para la realización de este trabajo. A la asistencia técnica de Bernardo Contreras, Edith López y Germán Vega; a Raúl Cardoso y José Luis Calderón por las ilustraciones; a Alejandro Valdés Cruz por la revisión final del manuscrito y a Marcela Sánchez por la revisión del inglés.

## REFERENCIAS

1. Ben-Menachem E, Hamberger A, Hedner T, Hammond EJ et al. Effects of vagus nerve stimulation on amino acids and other metabolites in the CSF of patients with partial seizures. *Epilepsy Res* 1995;20:221-227.
2. Hammond E, Uthman BM, Wilder BJ, Ben-Menachem E et al. Neurochemical effects of vagus nerve stimulation in humans. *Brain Res* 1992;583:300-303.
3. Malow BA, Edwards J, Marzec M, Sagher O et al. Vagus nerve stimulation reduces daytime sleepiness in epilepsy patients. *Neurology* 2001;57:879-884.
4. Olejniczak PW, Fisch BJ, Carey M, Butterbaugh G et al. The effect of vagus nerve stimulation on epileptiform activity recorded from hippocampal depth electrodes. *Epilepsia* 2001;42:423-429.
5. Lockard JS, Congdon WC, Ducharm E. Feasibility and safety of vagal stimulation in monkey model. *Epilepsia* 1990;(Supl 2):31:20-26.
6. McLachlan RS. Suppression of interictal spikes and seizures by stimulation of the vagus nerve. *Epilepsia* 1993;34:918-923.
7. Fernández-Guardiola A, Martínez A, Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM et al. Vagus nerve chronic stimulation in cats: effects on epileptogenesis (amygdala electrical kindling): behavioral and electrographic changes. *Epilepsia* 1999;40:822-829.
8. Martínez A, López-Ruiz E, Vega-Flores G, Fernández-Mas R et al. Efecto de la estimulación del nervio vago sobre la epilepsia focal amigdalina en la rata. *Salud Mental* 2004;27:62-72.
9. Chase MH, Sterman MB, Clemente CD. Cortical and subcortical patterns of response to afferent vagal stimulation. *Exp Neurol* 1966a;16:36-49.
10. Chase MH, Nakamura Y, Clemente CD, Sterman MB. Afferent vagal stimulation: neurographic correlates of induced EEG synchronization and desynchronization. *Brain Res* 1967b; 5:236-249.
11. Golovan EV, Reis DJ. Neurons of nucleus of the solitary tract synchronize the EEG and elevate cerebral blood flow via a novel medullary area. *Brain Res* 2001;892:1-12.
12. Magnes J, Moruzzi G, Pompeiano O. Synchronization of the EEG produced by low frequency electrical stimulation of the region of the Solitary Tract. *Arch Ital Biol* 1961;99:33-61.
13. Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM, Martínez-Vargas D, Fernández-Mas R et al. Chronic stimulation of the cat vagus nerve: effect on sleep and behavior. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatr* 2002;26:113-118.
14. Nichols JA, Nichols AR, Smirnakis SM, Engineer ND et al. Vagus nerve stimulation modulates cortical synchrony and excitability through the activation of muscarinic receptors. *Neuroscience* 2011;189:207-214.
15. Puizillout JJ, Ternaux JP, Foutz AS, Dell P. Slow wave sleep with phasic discharges. Triggering by vago-aortic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1973;3:21-37.
16. Puizillout JJ. Vago-aortic nerves stimulation and REM sleep: Evidence for a REM-triggering and a REM-maintenance factor. *Brain Res* 1976;111:181-184.
17. Deschenes M, Paradis M, Roy JP, Steriade M. Electrophysiology of neurons of lateral thalamic nuclei in cat: resting properties and burst discharges. *J Neurophysiol* 1984;51:1196-1219.
18. Steriade M, Deschenes M, Domich L, Mulle C. Abolition of spindle oscillations in thalamic neurons disconnected from nucleus reticularis thalami. *J Neurophysiol* 1985;54:1473-1497.
19. Marks GA, Roffwarg HP. Spontaneous activity in the thalamic reticular nucleus during the sleep/wake cycle of the freely-moving rat. *Brain Res* 1993;623:241-248.
20. Autret A. Sleep and intra-ictal epileptic electroencephalographic activities. *Neurophysiol Clin* 1995;25:263-282.
21. De Curtis M, Librizzi L, Biella G. Discharge threshold is enhanced for several seconds after a single interictal spike in a model of focal epileptogenesis. *Eur J Neurosci* 2001;14:174-178.
22. Engel JJr, Blander R, Griffith NC, Caldecott-Hazard S. Neurobiological evidence for epilepsy-induced interictal disturbances. *Adv Neurol* 1991;55:97-109.
23. Glenn LL, Steriade M. Discharge rate and excitability of cortically projecting intralaminar thalamic neurons during waking and sleep states. *J Neurosci* 1982;2:1387-1404.
24. Magdaleno-Madrigal VM, Valdés-Cruz A, Martínez-Vargas D, Martínez A, Almazán S et al. Effect of electrical stimulation of the nucleus of the solitary tract on the development of electrical amygdaloid kindling in cat. *Epilepsia* 2002;43:964-969.
25. Reinoso-Barbero F, De Andrés I. Effects of opioid microinjections in the nucleus of the solitary tract on the sleep-wakefulness cycle states in cats. *Anesthesiology* 1995;82:144-152.
26. Moruzzi G, Magoun HW. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1949;1:455-473.
27. Magni F, Moruzzi G, Rossi GF, Zanchetti A. EEG Arousal following in-

- activation of the lower brain-stem by selective injection of barbiture into the vertebral circulation. *Arch Ital Biol* 1959;97:33-46.
28. Berlucchi G, Maffei L, Moruzzi G, Strata P. EEG and behavioral effects elicited by cooling of medulla and pons. *Arch Ital Biol* 1964;102:372-392.
  29. Bonvallet M, Bloch V. Bulbar control of cortical arousal. *Science* 1961;133:1133-1134.
  30. Bonvallet M, Allen MB. Prolonged spontaneous and evoked reticular activation following discrete bulbar lesions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1963;15:969-988.
  31. Steriade M, Hobson J. Neuronal activity during the sleep-waking cycle. *Prog Neurobiol* 1976;6:155-376.
  32. Batini C, Moruzzi G, Palestini M, Rossi GF et al. Effects of complete pontine transections on the sleep-wakefulness rhythm: the midpontine pretrigeminal preparation. *Arch Ital Biol* 1959;97:1-12.
  33. Moruzzi G. The sleep-waking cycle. *Ergeb Physiol* 1972;64:1-165.
  34. Kellaway P. Sleep and epilepsy. *Epilepsia* 1985;(Supl 1)26:15-30.
  35. Fernández-Guardiola A, Martínez A, Fernández-Mas R. Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23 h recording) and brain mapping study. *Epilepsy Res* 1995;22:127-136.
  36. Martínez A, Fernández-Mas R, Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal V et al. Efecto de la naloxona sobre un foco epileptico inducido por penicilina en la amígdala del lóbulo temporal de gatos. EEG y registros polisomnográficos de 23 horas. *Salud Mental* 2002;25:56-63.
  37. Snider RS, Niemer WT. A stereotaxic atlas of the cat brain. Chicago: University of Chicago Press; 1961.
  38. Wada JA, Sato M. Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala in cats. Correlative electrographic and behavioral features. *Neurology* 1974;24:565-574.
  39. Ursin R, Sterman MB. A manual for standardized scoring of sleep and waking states in the adult cat. Los Angeles: University of California; 1981.
  40. Guzmán-Flores C, Alcaráz M, Fernández-Guardiola A. Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol Inst Est Med Biol (Mex)* 1958;16:29-31.
  41. Reinoso-Suaréz F. Topographischer hirn atlas der katze fuer experimentell physiologischer untersuchungen. Darmstadt: I Merk, AC; 1961.
  42. Jaseja H. EEG-desynchronization as the major mechanism of anti-epileptic action of vagal nerve stimulation in patients with intractable seizures: Clinical neurophysiological evidence. *Med Hypotheses* 2010;74:855-856.
  43. Ring HA, White S, Costa DC, Pottinger R et al. A SPECT study of the effect of vagal nerve stimulation on thalamic activity in patients with epilepsy. *Seizure-European J Epilepsy* 2000;9:380-384.
  44. Henry TR, Votaw JR, Pennell PB, Epstein CM et al. Acute blood flow changes and efficacy of vagus nerve stimulation in partial epilepsy. *Neurology* 1999;52:1166-1173.
  45. Reardon F, Mitrofanis J. Organization of the amygdalo-thalamic pathways in rats. *Anat Embryol* 2000;201:75-84.
  46. Gloor P. Generalized epilepsy with bilateral synchronous spike and wave discharge. New findings concerning its physiological mechanisms. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1978;(Supl)34:245-249.
  47. Kostopoulos GK. Spike-and-wave discharges of absence seizures as transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis. *Clin Neurophysiology* 2000;(Supl 2)111:7-38.
  48. Steriade M, Contreras D. Spike-wave complexes and fast components of cortically generated seizures. I. Role of neocortex and thalamus. *J Neurophysiol* 1998;80:1439-1455.
  49. Pinault D, Slézia A, Acsády L. Corticothalamic 5-9Hz oscillations are more pro-epileptogenic than sleep spindles in rats. *J Physiol* 2006;574:209-227.
  50. Steriade M, Gloor P, Llinas RR, Lopes da Silva FH et al. Basic mechanisms of cerebral rhythmic activities. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990;76:481-508.
  51. Henry TR. Anatomical, experimental, and mechanistic investigations. En: Schacter SC, Schmidt D (eds.). *Vagus nerve stimulation*. UK: Martin Dunitz Ltd; 2001.
  52. Caous CA, De Sousa BH, Lindsey CJ. Neuronal connections of the paratrigeminal nucleus: a topographic analysis of neurons projecting to bulbar, pontine and thalamic nuclei related to cardiovascular, respiratory and sensory functions. *Autonomic Neuroscience Basic Clinical* 2001;94:14-24.
  53. Juhasz G, Detari L, Kukorelli T. Effects of hypnogenic vagal stimulation on thalamic neuronal activity in cats. *Brain Res Bull* 1985;15:437-441.
  54. Dell P, Olson P. Projections thalamiques, corticales et cerebelleuses afférences viscérales vagales. *C R Soc Biol (París)* 1951;145:1084-1088.
  55. Dell P, Olson P. Projections secondaires mesencephaliques, encephaliques et amygdaliennes des afférences viscérales vagales. *C R Soc Biol (París)* 1951;145:1088-1091.
  56. Nosjean A, Arlison M, Laguzzi RF. Increase in paradoxical sleep after destruction of serotonergic innervation in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuroscience* 1987;23:469-481.
  57. Simón-Arceo K, Ramírez-Salado I, Calvo JM. Long-lasting enhancement of rapid eye movement sleep and pontogeniculoccipital waves by vasoactive intestinal peptide microinjection into the amygdala temporal lobe. *Sleep* 2003;26:259-264.
  58. Hobson JA, Stickgold R, Pace-Schott EF. The neuropsychology of REM sleep dreaming. *Neuroreport* 1998;9:1-14.
  59. Pal D, Madan V, Mallick BN. Neural mechanism of rapid eye movement sleep generation: Cessation of locus coeruleus neurons is a necessity. *Sheng Li Xue Bao* 2005;57:401-413.
  60. Gloor P, Avoli M, Kostopoulos G. Thalamocortical relationships in generalized epilepsy with bilaterally synchronous spike-and-wave discharges. En: Avoli M, Gloor P, Kostopoulos G, Naquet R (eds.). *Generalized epilepsy*. Boston MA: Birkhäuser; 1990.
  61. Nobili L, Baglietto MG, Beelke M, De Carli F et al. Modulation of sleep interictal epileptiform discharges in partial epilepsy of childhood. *Clin Neurophysiol* 1999;110:839-845.
  62. Steriade M, Contreras D. Cellular basis of EEG slow rhythms: a study of dynamic corticothalamic relationships. *J Neurosci* 1995;15:604-622.
  63. Goard M, Dan Y. Basal forebrain activation enhances cortical coding of natural scenes nature. *Nat Neurosci* 2009;12:1444-1451.
  64. Valverde F. Reticular formation of the pons and medulla oblongata. A Golgi study. *J Comp Neurol* 1961;116:71-99.
  65. Rizzo P, Beelke M, De Carli F, Canovaro P et al. Chronic vagus nerve stimulation improves alertness and reduces rapid eye movement sleep in patients affected by refractory epilepsy. *Sleep* 2003;26:607-611.
  66. Basil CW. Sleep. En: Schacter SC, Holmes GL, Kastelein-Nolst DGA (eds.). *Behavioral aspects of epilepsy*. New York: Demos Medical Publishing; 2008.
  67. Kapp BS, Markgraf CG, Schwaber JS, Bilyk-Spafford T. The organization of dorsal medullary projections to the central amygdaloid nucleus and parabrachial nuclei in the rabbit. *Neuroscience* 1989;30:717-732.
  68. Carmona L. Caracterización de los sistemas de excitación e inhibición presentes en el foco epileptico amigdalino inducido por la administración intracerebral de penicilina G en la rata. Tesis de maestría en ciencias. México D.F., 2002.
  69. Saper CB, Loewy AD. Efferents connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 1980;197:291-317.
  70. Groves DA, Bowman EM, Brown VJ. Recordings from the rat locus coeruleus during acute vagal nerve stimulation in the anaesthetised rat. *Neurosci Lett* 2005;379:174-179.
  71. Krah SE, Clark KB, Smith DC, Browning RA. Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation. *Epilepsia* 1998;39:709-714.
  72. Van Bockstaele EJ, Peoples J, Telegan P. Efferent projections of the nucleus of the solitary tract to peri-locus coeruleus dendrites in rat brain: evidence for a monosynaptic pathway. *J Com Neurol* 1999;412:410-428.

Artículo sin conflicto de intereses