

# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**UNIDAD IZTAPALAPA**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD



**“EFECTO DE CONVULSIVANTES SOBRE LAS ONDAS  
TARDÍAS DE LOS POTENCIALES AUDITIVOS  
EVOCADOS DEL TALLO CEREBRAL (PAETC) Y  
SOBRE LA AUDICIÓN EN AUSENCIA Y EN  
PRESENCIA DE VINPOCETINA”**

## **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA

**VLADIMIR NEKRASSOV PROTASOVA**

DIRECTORA DE TESIS: DRA. MARIA SITGES BERRONDO

CODIRECTOR: DR. RUBEN ROMAN RAMOS

ASESOR: DR. EMILIO ARCH TIRADO

México, D.F.

Noviembre del 2003

**“El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93”.**

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud  
de las Unidades Iztapalapa y Xochimilco  
aprobó la tesis que presentó

Vladimir Nekrassov Protasova

El día 10 de noviembre del año de 2003

Comité Tutorial:

Tutora: Dra. María Sitges Berrondo

Cotutor: Dr. Rubén Román Ramos

Asesor: Dr. Emilio Arch Tirado

Sinodal: Dr. Alfonso E. Campos Sepúlveda

Sinodal: Dra. Clorinda Arias Álvarez

Agradezco a mi tutora, la **Dra. María Sitges Berrondo**, por ser un científico ejemplar, por su fe en mí y por todas las cosas que me enseñó con paciencia y sin ella. Admiro tu calidad humana, María.

Agradezco a mi tutor, el **Dr. Rubén Román Ramos**, por ser un profesor ejemplar y por su apoyo y ayuda incondicionales. Además, por brindarme su confianza y respeto.

Agradezco al **Dr. Emilio Arch Tirado**, por ser mi asesor y amigo; por “darme siempre una manito” cuando lo he necesitado. Gracias, Emilio, por todo y por tu constante buen humor.

Agradezco a la **Dra. Clorinda Arias Alvarez** y al **Dr. Alfonso E. Campos Sepúlveda**, que fungieron como mis sinodales, por su valioso tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por sus sugerencias.

## RESUMEN

En la presente tesis la conexión entre las anomalías de los potenciales auditivos evocados del tallo cerebral (PAETC) y la pérdida del oído en la epilepsia generalizada se estableció investigando los efectos de los agentes convulsivantes, pentilentetrazol (PTZ) y 4-aminopiridina (4-AP), sobre el umbral auditivo y sobre las amplitudes y latencias de las ondas de los PAETC inducidos por un estímulo de alta intensidad (100 dB) en los cobayos. Todos los animales inyectados con 100 mg/kg de PTZ o con 2 mg/kg de 4-AP desarrollaron convulsiones generalizadas, seguidas por patrones del EEG característicos del periodo post-ictal, que fueron acompañados por una elevada pérdida del oído indicada por el marcado aumento en el umbral de los PAETC, así como por cambios retrococleares indicados por los cambios en las ondas tardías de los PAETC en respuesta a 100 dB. La comparación de los registros del EEG y de los PAETC tomados a tiempos específicos dentro de 1 hora después de la inyección del PTZ y dentro de 2 horas después de la inyección de la 4-AP durante el periodo post-ictal, reveló que la magnitud de los cambios en el EEG correspondía con la del umbral auditivo y con la de los cambios de las ondas tardías de los PAETC inducidos por 100 dB. Estos datos indican que los cambios en la actividad de los núcleos lateral y medial del complejo olivar superior acompañan a la pérdida del oído y a la actividad cortical epiléptica post-ictal.

Además de las anormalidades en los PAETC y deficiencias en la audición que causa la epilepsia, también ha sido reportado que su tratamiento con las drogas antiepilépticas disponibles causa anormalidades en algunas ondas de los PAETC y pérdida del oído. Como en un trabajo previo nosotros habíamos demostrado que el bloqueador de los canales de  $\text{Na}^+$ , la vinpocetina (etil apovincamina-22-oato), inhibía las alteraciones en las ondas de los PAETC y la pérdida del oído inducidos por amikacina en el cobayo *en vivo*, en esta tesis también examinamos el efecto de la vinpocetina sobre las anormalidades de las ondas de los PAETC y sobre la pérdida del oído que acompañan a los cambios dramáticos de la actividad cortical inducidos por los agentes convulsivantes, PTZ y 4-AP. La vinpocetina inyectada a una concentración de 2 mg/kg i.p. 4 horas antes del PTZ y una hora antes de la 4-AP eliminó los cambios en la amplitud y latencia de las ondas de los PAETC inducidos por el PTZ o la 4-AP en respuesta al estímulo de alta intensidad. La pérdida del oído inducida por los agentes convulsivantes, y evidenciada por el marcado aumento del umbral auditivo, también fue contrarrestada por la vinpocetina, que además abolió los cambios característicos en el EEG inducidos por el PTZ y la 4-AP durante los periodos ictal y post-ictal. En conjunto, estos resultados indican que la capacidad antiepiléptica de la vinpocetina no se ve acompañada por efectos adversos sobre la audición, como sucede con la mayoría de los fármacos antiepilépticos.

## **SUMMARY**

In the present thesis the connection between the abnormalities of the brainstem auditory evoked potential (BAEP) waves and the hearing decline in generalized epilepsy has been established by testing the effects of the convulsing agents, pentylenetetrazole (PTZ) and of 4-aminopyridine (4-AP), on the hearing threshold and the amplitudes and latencies of the BAEP waves induced by a stimulus of high intensity (100 dB) in guinea pigs. All animals injected with 100 mg/kg PTZ or with 2 mg/kg 4-AP developed generalized seizures, followed by characteristic EEG patterns for the post-ictal period, that were accompanied by a marked hearing decline indicated by the elevated threshold of the BAEP, as well as by retro-cochlear changes indicated by the changes in the later BAEP waves in response to 100 dB. Comparison of EEG and BAEP recordings taken at specific times within 1 hour after the injection of PTZ and 2 hours after the injection of 4-AP for the duration of the post-ictal period reveals that the magnitude of the changes on the EEG matches with that of the increase in the auditory threshold and with the extent of the changes on the later waves of the BAEP elicited by 100 dB. These data indicate that changes in the activity of the lateral and the medial nuclei of the superior olivary complex accompany the hearing loss and the post-ictal epileptic cortical activity.

In addition to the abnormalities in the BAEPs and the hearing deficits caused by epilepsy, also its treatment with the available antiepileptic drugs

has been reported to cause abnormalities in some of the BAEP waves and hearing declines. Since we have previously shown that the Na<sup>+</sup> channel blocker, vinpocetine (ethyl apovincamine-22-oate), inhibited the alterations in the BAEP waves and the hearing loss induced by amikacin in the guinea pig *in vivo*, in this thesis the effect of vinpocetine on the abnormalities of the BAEP waves and the hearing loss that accompany the dramatic changes in the cortical activity induced by the convulsing agents PTZ and 4-AP was also tested. Vinpocetine (2 mg/kg) injected four hours before PTZ and 1 hour before 4-AP cancelled the changes in amplitude and latency of the BAEP waves induced by PTZ or by 4-AP in response to the stimulus of high intensity. The hearing decline induced by the convulsing agents, evidenced by the marked increase in the ABR threshold, was also prevented by vinpocetine, that also abolished the characteristic EEG changes induced by PTZ and by 4-AP for the ictal and post-ictal periods. Taken together these results indicate that in contrast to most antiepileptic drugs, the antiepileptic capacity of vinpocetine is not accompanied by adverse effects on hearing.



# INDICE

<i>Abreviaturas</i> .....	1
<b>1. ANTECEDENTES</b>	
<b>1.1 Audición</b> .....	2
1.1.1 Sistema auditivo periférico .....	3
1.1.2 Sistema auditivo central .....	6
<b>1.2 Potenciales Auditivos Evocados del Tallo Cerebral (PAETC)</b>	
1.2.1 Definición .....	9
1.2.2 Generadores .....	9
1.2.3 Utilidad diagnóstica .....	11
<b>1.3. Epilepsia</b>	
1.3.1 Definición .....	13
1.3.2 Clasificación de las crisis epilépticas .....	16
1.3.3 Crisis generalizadas .....	17
1.3.4 Crisis parciales .....	20
<b>1.4 Modelos animales de epilepsia <i>in vivo</i></b> .....	23
<b>1.5 Fármacos anticonvulsivantes</b>	
1.5.1 Clasificación .....	27
1.5.2 Mecanismos generales de acción de los antiepilépticos .....	28
1.5.3 Efectos adversos .....	30
<b>1.6 La vinpocetina</b> .....	31

<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	33
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	35
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	35
<b>5. METAS</b> .....	35
<b>6. MATERIAL Y METODOS</b>	
6.1 Modelo animal .....	36
6.2 Equipo .....	37
6.3 Registros de efectos de agentes convulsivantes .....	38
6.4 Registros de acción de la vinpocetina sobre efectos del PTZ ...	38
6.5 Registros de acción de la vinpocetina sobre efectos de la 4-AP	39
6.6 Determinación de los parámetros de las ondas de los PAETC...	40
6.7 Determinación del umbral auditivo .....	41
6.8 Análisis estadístico de los resultados .....	41
<b>7. RESULTADOS</b>	
7.1 Efecto de la epilepsia farmacológica sobre los PAETC y la sensibilidad auditiva .....	42

<b>7.2 Efecto de la vinpocetina sobre los cambios en los PAETC y EEG que induce el PTZ .....</b>	<b>50</b>
<b>7.3 Efecto de la vinpocetina sobre los cambios en los PAETC y EEG que induce la 4-AP .....</b>	<b>57</b>
<b>8. DISCUSION GENERAL .....</b>	<b>63</b>
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>69</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>88</b>

## **INDICE DE FIGURAS**

<i>Figura 1. Esquema del sistema auditivo periférico. ....</i>	<i>3</i>
<i>Figura 2. Órgano de Corti .....</i>	<i>5</i>
<i>Figura 3 . Esquema de las principales estructuras del sistema auditivo central .....</i>	<i>8</i>
<i>Figura 4. Esquema de los principales mecanismos neuro- químicos generadores de convulsiones.....</i>	<i>14</i>
<i>Figura 5 . Fórmula semidesarrollada de la vinpocetina.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 6. Neuropack IV Mini .....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 7. Registros de los PAETC.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 8 . EEG antes y durante las convulsiones generalizadas inducidas por PTZ o por 4-AP.....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 9 . Registros de EEG antes y durante el periodo post-ictal.....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 10 . Aumentos en la amplitud máxima del EEG inducidos por el PTZ y la 4-AP durante el periodo post-ictal.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 11. El PTZ y la 4-AP aumentan marcadamente el umbral auditivo durante el periodo post-ictal. ....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 12. El PTZ disminuye la amplitud de la onda P4 de los PAETC inducidos por un estímulo de 100 dB a 8 kHz. ....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 13 . Efecto de la 4-AP sobre la amplitud de las ondas P4 y P3 de los PAETC inducidos por el estímulo de 100 dB a 8 kHz.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 14. La vinpocetina inhibe el aumento en las latencias de las ondas P2, P3 y P4 de los PAETC que induce el PTZ.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 15 . La vinpocetina inhibe los cambios en el electroencefalograma que induce el PTZ durante el periodo ictal.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 16. La vinpocetina inhibe los cambios en el EEG que induce el PTZ durante el periodo post-ictal.....</i>	<i>56</i>

<i>Figura 17. La vinpocetina inhibe las alteraciones en la amplitud de las ondas tardías del PAETC que induce la 4-AP.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 18. La vinpocetina inhibe los cambios en el EEG que induce la 4-AP durante el periodo ictal.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 19. La vinpocetina inhibe los cambios en el EEG que induce la 4-AP durante el periodo post-ictal.....</i>	<i>62</i>

## **INDICE DE TABLAS**

<i>Tabla 1. Farmacoterapia anticonvulsivante según el síndrome epiléptico.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabla 2. La PTZ aumenta las latencias de las ondas P2,P3 y P4 a 100 dB .....</i>	<i>49</i>
<i>Tabla 3. La 4-AP aumenta la latencia de la onda P4 de los PAETC a 100 dB.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 4. La vinpocetina inhibe la reducción en la amplitud de la onda P4 de los PAETC que provoca el PTZ .....</i>	<i>51</i>
<i>Tabla 5. La vinpocetina inhibe la pérdida del oído que induce el PTZ.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 6. La vinpocetina inhibe el aumento en la latencia de la onda P4 de los PAETC inducido por 4-AP.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabla 7. La vinpocetina inhibe la pérdida del oído que induce la 4-AP en el periodo post-ictal.....</i>	<i>59</i>

## **ABREVIATURAS**

*PAETC, potenciales auditivos evocados del tallo cerebral*

*EEG, electroencefalograma*

*COS, complejo olivar superior*

*PTZ, pentilentetrazol*

*4-AP, 4-aminopiridina*

*CSSV, canales de sodio sensibles a voltaje*

# **1. ANTECEDENTES**

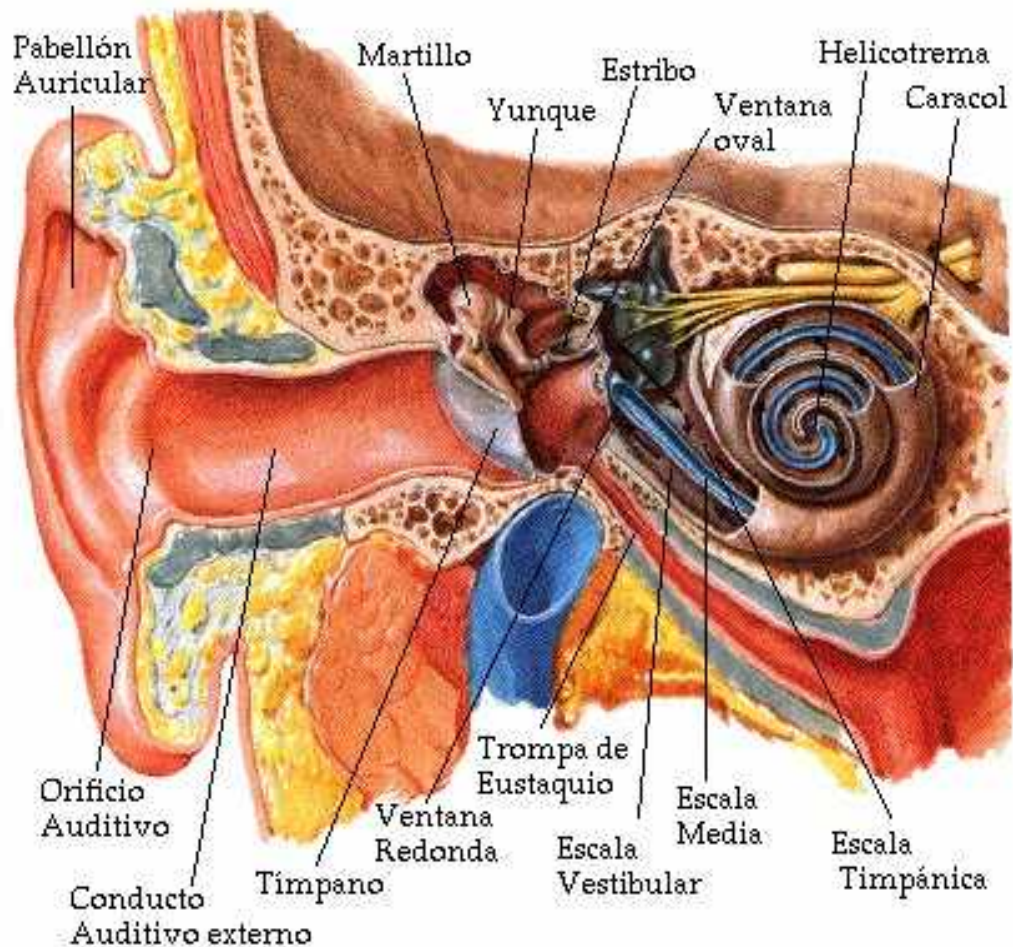
## **1.1 Audición**

La principal función de la audición, particularmente en el humano es la comunicación. Otras funciones de la audición biológicamente muy importantes son la de orientación al situar la procedencia espacial de la fuente de sonido, la de alerta o vigilancia, la de determinación de las distancias de los sentidos y del volumen del objeto, la secuencia temporal de los acontecimientos y otras ligadas con la supervivencia. Por consiguiente la alteración de la parte periférica o central del sistema auditivo supone una falta o pérdida de contacto con el medio ambiente y produce una disminución que puede llegar hasta la anulación de la supervivencia en los animales y una serie de efectos como aislamiento, inseguridad y trastornos psicológicos o psíquicos en los humanos.

La audición se hace posible mediante una serie de estructuras anatómicas que conforman al sistema auditivo. Este se puede dividir en 2 partes, la periférica y la central. La parte periférica del sistema auditivo está constituida por el órgano auditivo y el nervio coclear. La parte central del sistema auditivo está constituida por las estructuras cerebrales del tracto auditivo.

### 1.1.1 Sistema auditivo periférico

Este sistema está constituido por el órgano auditivo y el nervio coclear. El órgano auditivo se divide a su vez en 3 partes: el oído externo, el oído medio, el oído interno (Fig. 1).

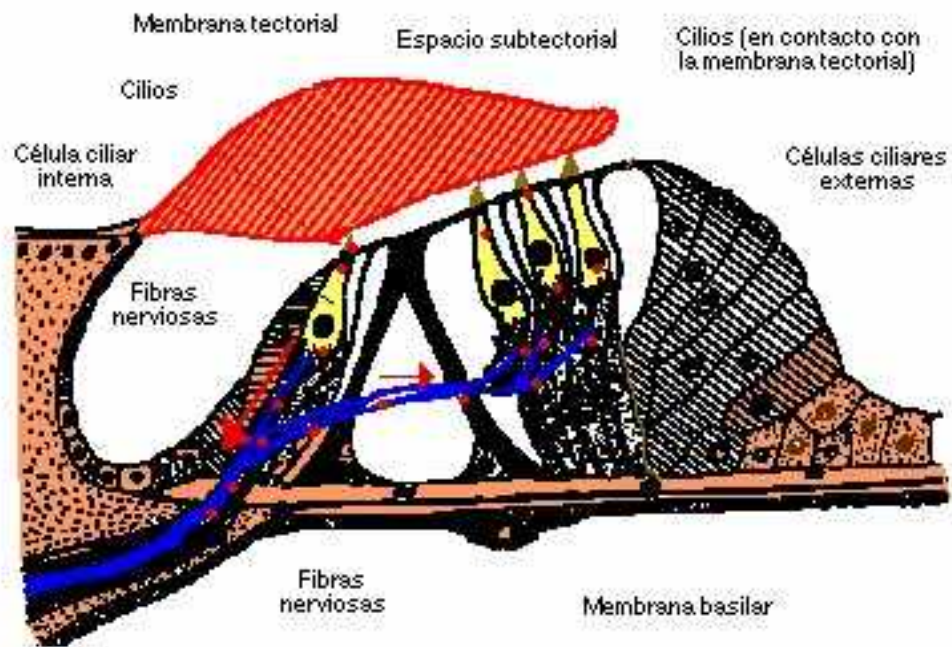


*Figura 1. Esquema del sistema auditivo periférico.*



El oído externo comprende la "oreja" (lóbulo externo del oído), el pabellón auricular y el conducto auditivo externo (Goode 2001). El oído medio es un conducto estrecho, o fisura, que se extiende unos quince milímetros en un recorrido vertical y otros quince en recorrido horizontal, es hueco, lleno de aire, está limitado por un lado por el tímpano y por el otro por el oído interno. Hay una cadena de huesecillos que está formada por cuatro huesos pequeños y móviles que atraviesan el oído medio. Estos cuatro huesos reciben los nombres de martillo, yunque, lenticular y estribo. Los cuatro conectan acústicamente el tímpano con el oído interno, transmitiendo las vibraciones del tímpano amplificadas a la ventana oval (Rosowski 2001).

El oído interno se encuentra en el interior del hueso temporal que contiene el órgano auditivo, mismo que está inervado por los filamentos del nervio auditivo. Está lleno de líquido y tiene dos cavidades: el vestíbulo y el caracol o cóclea, largo tubo arrollado en espiral donde se encuentran las células receptoras de los sonidos, provistas de cilios, cada una de las cuales está adaptada para la recepción de sonidos de un tono determinado. El movimiento de la endolinfa que se produce al vibrar la cóclea, estimula el movimiento de un grupo de proyecciones finas, similares a cabellos, denominadas células pilosas. El conjunto de células pilosas constituye el órgano de Corti (Fig. 2).



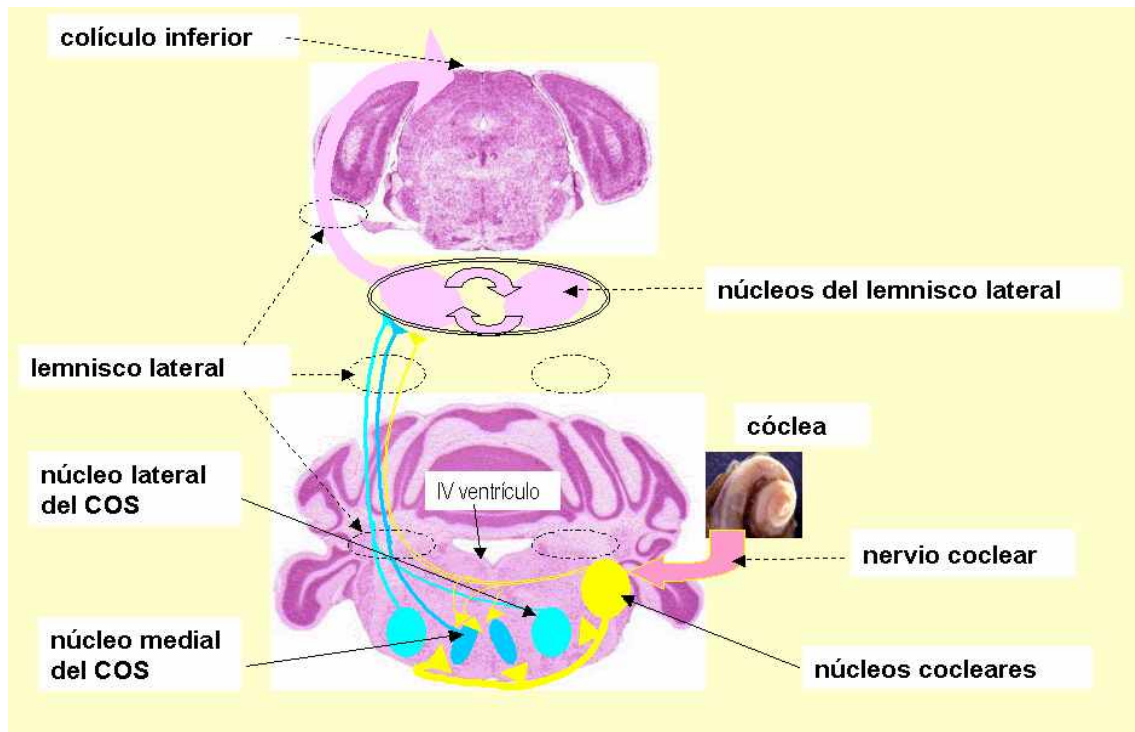
*Figura 2. Órgano de Corti.*

El patrón de respuesta de las células pilosas a las vibraciones de la cóclea codifica la información sobre el sonido para que pueda ser interpretada por los centros auditivos del cerebro. Las señales generadas por las células pilosas se perciben por prolongaciones distales (dendritas) de las células nerviosas ubicadas en el ganglio espiral del caracol. Las prolongaciones centrales (axonas) de las mismas forman las fibras del nervio coclear y entran en la cara anterior del tallo cerebral (Santi y Tsuprun 2001).

### **1.1. 2 Sistema auditivo central**

El tallo cerebral es una parte pequeña, compacta, del encéfalo que contiene muchos núcleos y haces de fibras. Una porción relativamente grande de estas estructuras del tallo cerebral está involucrada en la transmisión y procesamiento de la información auditiva. Las fibras del nervio coclear se terminan después de entrar en el tallo cerebral y hacer contacto sináptico (no se conoce el neurotransmisor) con las neuronas del núcleo coclear (Cant 1992). A su vez, los núcleos cocleares envían axones que corren internamente a través del tallo cerebral para terminar en el núcleo medial y el núcleo lateral del complejo olivar superior (COS) formando contactos sinápticos glutamatérgicos (Suneja y col. 1995a). Estos dos núcleos ubicados a la altura del tallo cerebral son los sitios primarios y principales de la interacción binaural en el sistema auditivo ascendente y por consiguiente, entre los núcleos del COS, son los que juegan el papel más importante (Jewett y col. 1970). La interacción binaural permite ubicar la fuente de sonido al detectar las diferencias en tiempo e intensidad entre dos impulsos nerviosos (señales neuronales) evocados por el mismo sonido sobre los dos oídos que lo perciben independientemente. La tarea de detección de las diferencias en el tiempo de llegada de los impulsos nerviosos provenientes de cada oído se realiza en el núcleo medial del COS, que percibe impulsos nerviosos evocados por sonidos de baja frecuencia (Yin y Chan 1990).

La tarea de detección de las diferencias en la intensidad de los dos impulsos nerviosos provenientes de los dos oídos se realiza en el núcleo lateral del COS, que percibe los impulsos nerviosos evocados por sonidos de alta frecuencia (Tollin y Yin 2002). Estos dos parámetros físicos (tiempo e intensidad) se analizan de manera diferente en los dos núcleos mencionados. Mientras que el núcleo medial del COS percibe y procesa principalmente señales excitadoras glutamatérgicas provenientes de los núcleos cocleares de ambos lados (Suneja y col. 1995a), el núcleo lateral del COS percibe y procesa una señal excitadora glutamatérgica proveniente del núcleo coclear ipsilateral (Suneja y col. 1995a) y una señal inhibitoria glicinérgica proveniente del núcleo coclear contralateral, a través del núcleo medial del cuerpo trapezoide (Helfert y col. 1989; Suneja y col. 1995b). Los axones de las neuronas de los núcleos del COS ascienden a través del tallo cerebral y mesencéfalo y forman un haz conocido con el nombre de lemnisco lateral, la principal vía auditiva ascendente. A medida que estas fibras ascienden, algunas hacen relevo en pequeños grupos de células nerviosas, denominados en conjunto núcleo del lemnisco lateral (Schwartz 1992). Al llegar al mesencéfalo, las fibras del lemnisco lateral terminan en el núcleo del tubérculo cuadrigémino colículo inferior (Oliver y Huerta 1992) o hacen relevo en el cuerpo geniculado interno y pasan hacia la corteza auditiva del hemisferio cerebral a través de la radiación acústica de la cápsula interna (Fig. 3).



*Figura 3 . Esquema de las principales estructuras del sistema auditivo central*

La corteza auditiva primaria incluye la circunvolución de Heschl en la cara superior de la circunvolución temporal superior. El reconocimiento e interpretación de sonidos sobre la base de experiencias pasadas ocurre en el área auditiva secundaria (Winer 1992).

Debe señalarse que los impulsos nerviosos desde el oído son transmitidos a lo largo de vías auditivas a ambos lados del tallo cerebral, y son más los impulsos proyectados a lo largo de la vía contralateral. La organización tonotópica presente en el órgano de Corti está conservada

dentro de los núcleos cocleares, núcleos del COS, tubérculos cuadrigéminos inferiores y área auditiva primaria (Winer 1992) .

## **1.2 Potenciales Auditivos Evocados del Tallo Cerebral**

### **1.2.1 Definición**

Los potenciales auditivos evocados del tallo cerebral o PAETC por sus siglas son respuestas de las estructuras auditivas del tallo cerebral que se registran dentro de los primeros 10 milisegundos después de la aplicación de un estímulo acústico, por lo que son independientes de la actividad eléctrica de la corteza. Los PAETC viajan del tallo cerebral a la superficie de la cabeza por conductividad voluminosa sin usar vías sinápticas (Jewett 1970). Los PAETC se caracterizan por cuando menos 4 ondas positivas permanentes en los animales y 5 en los humanos. Las ondas tardías de los PAETC reflejan la actividad eléctrica de núcleos específicos localizados en el tallo cerebral (Huang 1980; Moller y Burgess 1986).

### **1.2.2 Generadores**

La ubicación anatómica de los generadores de cada una de las ondas del PAETC ha sido bien establecida mediante estudios electrofisiológicos en los animales. En el cobayo la primera onda (P1) del PAETC es generada por el nervio coclear y la segunda onda (P2) por el

núcleo coclear (Moller y Burgess 1986). Las ondas P3 y P4, se originan en el complejo olivar superior (COS) localizado en la parte ventral inferior del tallo cerebral. Entre los núcleos del COS, el núcleo medial genera la onda P3 y el núcleo lateral genera la onda P4 (Wada y Starr 1983a; 1983b; 1983c). Los generadores de las ondas de los PAETC en el humano son ligeramente diferentes. La onda I del los PAETC en el humano es generada en la porción distal del nervio coclear y la onda II es generada en la porción proximal del nervio coclear (Hashimoto 1981; Moller y Jannetta 1982, Moller y col. 1988). Las diferencias entre los generadores de las dos ondas iniciales de los PAETC en humanos y en animales es probable que se deban a la mayor longitud del nervio coclear en el humano por el tamaño de la cabeza. Por ejemplo, la longitud promedio del nervio coclear en el humano alcanza 25 mm, mientras que la longitud promedio del mismo nervio en el macaco de la India es de la quinta parte, 5 mm (Lang 1981). Consistentemente con los datos obtenidos por registros intracraneales directos, el tiempo total de conducción del nervio coclear humano es de 1-1.5 milisegundos mientras que en el macaco es menor a 0.3 milisegundos (Moller y Burgess 1986; Moller y col. 1988). Con estos datos concuerdan los resultados de registros simultáneos del núcleo coclear y de los PAETC, que demuestran directamente que el núcleo coclear es el generador de la onda III en el humano (Moller y Jannetta 1983). No obstante, con base en la ubicación exacta de los generadores de las primeras tres ondas de los PAETC en el humano varios autores

estiman que las ondas IV y V son respectivamente los equivalentes electrofisiológicos de las ondas P3 y P4 de los PAETC en los animales (Moller y Burgess 1986; Moller 2000; Sekiya y col. 2002). La onda V en los humanos (P4 en animales) es la más sensible a las alteraciones del tallo cerebral y por lo tanto los valores de latencia y amplitud de dicha onda son ampliamente utilizados en las interpretaciones clínicas (Hall 1992; Malhotra 1997; Moller 2000).

### **1.2.3 Utilidad diagnóstica**

La evolución del PAETC como herramienta clínica ha llevado un poco más de 30 años, desde que Jewett y colaboradores en 1970 registraron los PAETC en el humano por primera vez, usando el procedimiento computarizado de promediación de señales, que permitió registrar a los PAETC desde la superficie de la cabeza de manera no invasora (Jewett 1970), como se sigue practicando hoy en día. Antes de la aplicación de esta tecnología en el registro de los PAETC, el registro de los potenciales evocados del oído interno, nervio coclear o núcleos del tracto auditivo solamente podía ser realizado durante la intervención quirúrgica (Ferraro 1997). La popularidad actual de utilizar a los PAETC para propósitos audiológicos y neurológicos se debe a la objetividad de este método, ya que no necesita cooperación del paciente en ningún momento del estudio. Además de la efectividad diagnóstica de los PAETC, su bajo costo en comparación con los métodos de imagenología, permiten



utilizarlos en grandes poblaciones de pacientes con propósitos de diagnóstico temprano (Robinette y col. 2000; Thompson y col. 2001; Dort y col. 2001). La identificación temprana de la pérdida del oído, particularmente en los niños, es una de las aplicaciones más comunes de los PAETC (Mason y col.1998; Eden y col. 2000). En la mayoría de las clínicas de los países desarrollados los PAETC se registran rutinariamente en pacientes con deterioro de audición con el propósito de distinguir patología coclear de origen periférico (sensoria) de patología retrococlear de origen central. La hipoacusia asimétrica que se puede detectar con los PAETC frecuentemente indica patología retrococlear, que habitualmente es de carácter tumoral con localización en la fosa craneal posterior (Raber 1997). El método de los PAETC ha demostrado alta efectividad en el diagnóstico de ese tipo de alteraciones, ya que la sensibilidad diagnóstica de los PAETC en casos de pequeños neuromas acústicos alcanza 92%, lo que permite utilizarlo confiablemente para el rastreo de pacientes clínicamente sospechosos (Godey y col. 1998; El-Kashlan y col. 2000). Los PAETC también han demostrado alta efectividad diagnóstica en el caso de pequeñas lesiones isquémicas localizadas en el puente (Pratt y col. 1998). Los parámetros principalmente utilizados para la interpretación neurodiagnóstica de los PAETC registrados en pacientes con alteraciones retrococleares son la latencia y la amplitud de la onda V, equivalente electrofisiológico de la onda P4 en animales. Por ejemplo, la disminución en la amplitud o el aumento en la latencia de la onda V durante la cirugía

de la fosa posterior son señales alarmantes indicativas de daño ocasionado en el tallo cerebral (Hatayama y Moller 1998; Legatt 2002). Así, el registro continuo de los PAETC durante las operaciones de la fosa posterior es muy efectivo para realizar a tiempo correcciones durante las manipulaciones quirúrgicas, así como para prevenir daños neurológicos clínicos y predecir consecuencias desfavorables en los pacientes después de la cirugía (Lopez y col. 1999). El registro de los PAETC también es de mucha utilidad en la evaluación y pronóstico de los pacientes en estado de coma. Por ejemplo, en los pacientes en coma la disminución dramática en la amplitud o el aumento en la latencia de la onda V sugiere daño neuronal irreversible ocasionado por hemorragia cerebral (Facco y col. 1998). La ausencia completa de las ondas V y III de los PAETC, aún con la presencia de las ondas I y II (de origen periférico) en pacientes en coma, es un signo más confiable de muerte cerebral que el EEG isoeléctrico y arreactivo (Haupt y Rudolf 1999; Facco y col. 2002).

## **1.3 Epilepsia**

### **1.3.1 Definición**

La epilepsia comprende un grupo de desórdenes caracterizados por convulsiones recurrentes no provocadas, que causan un daño transitorio de la función cerebral debido a excitabilidad paroxismal excesiva y sincronización aberrante de la corteza (Noebels 1996). La epilepsia es un

término general que incluye varios tipos de convulsiones. Las personas con epilepsia diagnosticada han tenido más de una crisis. Una crisis ocurre cuando la actividad cerebral anormal causa un cambio involuntario de movimiento o función del cuerpo, de sensación en la capacidad de estar alerta o de comportamiento.

La etiología de la epilepsia es multifactorial. El GABA es el transmisor inhibitor por excelencia mientras que el glutamato es el transmisor excitador por excelencia. Los estudios neuroquímicos y farmacológicos indican que tanto la disminución en la transmisión sináptica GABAérgica cerebral como el aumento o excesividad en la transmisión sináptica glutamatérgica cerebral desencadenan actividad epiléptica (Bradford, 1995; Obrenovitch y Urenjak, 1997). Estas hipótesis se ilustran de manera gráfica en el siguiente esquema.



*Figura 4. Esquema de los principales mecanismos neuroquímicos generadores de convulsiones.*

La epilepsia en general no es claramente hereditaria, aunque hay evidencias que sugieren cierta predisposición genética a la enfermedad. Por ejemplo hay dos formas de epilepsia que son claramente de origen hereditario: La de "ausencia" que se da en los niños y tiene una patrón electroencefalográfico característico; y la "mioclónica" que se produce por una alteración en el cromosoma 6. También hay casos de epilepsia relacionados con traumatismos de parto y/o hipoxia perinatal. En estos casos se puede provocar una importante pérdida de neuronas, lo que a su vez va a inducir la formación de sinapsis aberrantes en esas zonas del cerebro, pudiendo romperse el equilibrio entre sinapsis excitadoras (glutamato) e inhibitorias (GABA) a favor de las excitadoras, lo que finalmente va a provocar descargas hipsincrónicas y, por lo tanto, crisis epilépticas (Rubio Donnadieu 1997).

La epilepsia es una de las enfermedades cerebrales con mayor incidencia. La elevada cantidad de personas con epilepsia es uno de los argumentos para considerarla un problema de salud pública. Según el Programa de Atención a la Epilepsia promovida por la Secretaría de Salud a través del Consejo Nacional Contra las Adicciones (CONADIC) en México existen de 11.4 a 20.3 por cada 1000 personas en riesgo de padecer la epilepsia. Traducidas estas cifras a la población de México, se puede calcular que existen cerca de 1 a 2 millones de nacionales con este riesgo. En la sesión de la XXV Reunión Ordinaria del CONADIC del 12 de febrero de 2001 se dio a conocer el dato de que en el país existe un millón

de mexicanos con epilepsia diagnosticada (Secretaría de Salud. Comunicado de prensa No. 017, 2001). Además, en el comunicado de prensa del 7 de octubre de 2001 la Secretaría de Salud reveló que la creciente tendencia en México indica que dentro de pocos años, medio millón más de mexicanos sufrirán epilepsia (Secretaría de Salud. Comunicado de prensa No. 145, 2001). Como puede apreciarse por el número de personas que padecen epilepsia, este problema de salud justifica su importancia en las necesidades de salud en el país.

Es interesante que en los países subdesarrollados la prevalencia de esta enfermedad es mayor. Esto puede ser debido a factores sociales tales como la mayor cantidad de partos mal asistidos en los países subdesarrollados o tales como la mayor frecuencia de cisticercosis en Latinoamérica. La cisticercosis es una enfermedad parasitaria que invade al sistema nervioso. La neurocisticercosis se caracteriza con mucha frecuencia por ir acompañada de crisis epilépticas (García Pedroza 1997).

### **1.3.2 Clasificación de las crisis epilépticas**

Las formas de epilepsia son numerosas. Las manifestaciones de la epilepsia son múltiples y dependen del área cerebral afectada, motivo por el cual se han ideado diferentes clasificaciones que dependen del compromiso focal (frontal, temporal, parietal, occipital) o generalizado. A grandes rasgos se podría decir que alrededor del 60% de las epilepsias son de origen focal o parciales y alrededor de un 40% son generalizadas,

aunque hay un alto índice de casos (del 8 al 30%) que son inclasificables (Cockerell y col. 1995).

En 1981 la Liga Internacional contra la Epilepsia propuso una clasificación de las crisis epilépticas (Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy 1981), y en 1989 una clasificación de las epilepsias y síndromes epilépticos (Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy 1989). Sin embargo, ambas clasificaciones son demasiado voluminosas y mientras que tienen algunas diferencias en detalles específicos, tratan de manera semejante los puntos principales, es decir los relacionados con la división de las epilepsias o de las crisis epilépticas en parciales y generalizadas.

Para el propósito de esta tesis a continuación describiré las características que definen a las formas más importantes de crisis epilépticas generalizadas, que incluyen la epilepsia generalizada tónico-clónica y las ausencias y de crisis epilépticas parciales incluyendo las formas simples y complejas.

### **1.3.3 Crisis generalizadas**

Estas representan el 40% de las crisis epilépticas. Son generalizadas desde el comienzo. No hay ningún síntoma o signo que indique su origen en algún punto específico del cerebro (foco). El individuo pierde la conciencia de inmediato por una tremenda descarga en la que

participan los dos hemisferios cerebrales. Sin embargo no está claro si, aunque no se reconozca un foco primario, en las crisis generalizadas existe un punto desde donde comienzan a propagarse las descargas. Es probable que haya una descarga que se origina en la sustancia reticular activada del tallo cerebral, y que, de alguna manera, ésta se propague rápidamente a ambos hemisferios, provocando el ataque. Se piensa también que pueden tener origen en las regiones frontales (González Astiazarán 1997).

*Epilepsia generalizada tónico-clónica.* En este tipo de epilepsia, también conocida como gran mal, el paciente súbitamente, sin ningún signo que sugiera un origen focal, da un grito espeluznante y cae inmediatamente al suelo. Luego aparece una fase llamada tónica, en que aparece una feroz hipertonia de todos los grupos musculares (una contracción tónica), incluidos los masticadores, que son los que provocan que el sujeto se muerda la lengua. Habrá también micción involuntaria, sobre todo si la vejiga está llena. Esta fase dura algunos segundos, 30 aproximadamente, y luego viene la fase clónica, en que ocurren las sacudidas, las convulsiones. Durante la crisis tónica hay apnea, cianosis, pupilas midriáticas e inconsciencia. Así empieza la clásica forma generalizada tónico-clónica. Claro, podemos tener una crisis solamente tónica o solamente clónica, pero la más frecuente es la tónico-clónica (González Astiazarán 1997).

Hay otra forma generalizada en el niño, que se ve más en pediatría, llamada la crisis atónica, en que el niño pierde bruscamente el tono muscular, es como una marioneta a la que le cortan los hilos y el niño cae en esta crisis acinética bruscamente y a veces con pérdida de conciencia. Ahí la pérdida de conciencia suele no ser de inmediato, o es más débil, ya que el niño alcanza a darse cuenta de algo (González Astiazarán 1997).

En los niños se producen también otras formas generalizadas llamadas espasmos masivos en que los niños hacen una reacción brusca, masiva, y son crisis gravísimas con daño cerebral (González Astiazarán 1997).

*Ausencias.* Otra forma de crisis generalizada, bastante frecuente, son las ausencias, antes llamadas “petit mal”. Estas crisis se presentan principalmente en niños y adolescentes y suelen desaparecer con el tratamiento. Se caracterizan por sus episodios muy frecuentes, el paciente llega a tener de 10 a 20 episodios por día, que consisten en una suspensión brusca muy breve de la conciencia de aproximadamente de 5 a 15 segundos. El niño suspende la actividad que estaba realizando y queda completamente inmóvil, con la mirada fija, pudiendo haber un pequeño temblor de los párpados, para luego retomar lo que estaba haciendo al terminar la crisis. Las epilepsias que se manifiestan sólo como ausencias tienen relativamente buen pronóstico. Las ausencias se deben a una descarga que invade rápidamente los hemisferios afectando



la conciencia la cual es recuperada en pocos segundos gracias a mecanismos protectores efectivos que hacen que la crisis no se propague más allá. Este tipo de epilepsia es importante porque ocurre varias veces en el día y puede traer algunos riesgos, ya que si bien la conciencia se pierde tan solo por 15 segundos aproximadamente, si esto ocurre cuando el niño va a cruzar la calle, le puede costar la vida (González Astiazarán 1997).

#### **1.3.4 Crisis parciales**

Estas representan el 60% de las crisis epilépticas. En ellas puede reconocerse un origen focal. Las crisis parciales se dividen a su vez en dos tipos: simples y complejas. Las crisis parciales simples pueden ser motoras, sensitivas o autonómicas (González Astiazarán 1997).

*Crisis simples.* En este tipo de crisis no hay compromiso de la conciencia. Pueden ser motoras, en las que el sujeto tiene sacudidas en una extremidad producto de una descarga sincronizada de un grupo neuronal epileptógeno de un área motora. Si pensamos en el homúnculo motor que grafica la representación cortical de nuestras distintas áreas motoras, hay áreas, como la mano, con mayor representación. Entonces puede haber ahí un grupo neuronal anormal que descargue sincrónicamente, y el individuo comienza con un temblor en el pulgar, el que luego se trasmite a todo el brazo. Este avanzar de las crisis parciales

motoras: pulgar, brazo, pierna, etc; es muy característico. Es una propagación típica de la actividad neuronal excesiva, que se denomina: "Marcha Jaksoniana". Tiene entonces una semiología clásica, en la cual podemos reconocer un foco epiléptico (corteza motora en que está representado el pulgar, en este caso). La crisis parcial simple puede ser también sensitiva, y aunque su evolución no es tan clara como la Marcha Jaksoniana de las motoras, se pueden sentir parestesias que comienzan en el brazo y se propagan al resto de la pierna. También existen crisis parciales simples autonómicas, si el foco epiléptico es un grupo neuronal autonómico (González Astiazarán 1997).

*Crisis complejas.* Las crisis parciales complejas son las más frecuentes. En éstas el paciente siente lo que se denomina "aura", que es el síntoma que precede a una crisis, un malestar, una inquietud, o a veces una sensación rara en el estómago. Generalmente se originan en el lóbulo temporal y presentan compromiso de conciencia cualitativo o cuantitativo, porque estructuras del lóbulo temporal como la amígdala y el uncus, se relacionan rápidamente con la sustancia reticular al momento de propagarse la descarga epiléptica. El lóbulo temporal tiene que ver con la memoria ya que ahí se encuentra el hipocampo. Un grupo de neuronas epileptógenas en esta zona puede producir primero esta sensación rara en el estómago, y luego el sujeto puede sufrir alucinaciones de la memoria, que pueden ser visuales en que el paciente ve imágenes de su vida como

quien repite una película, auditivas en que escuchan canciones, etc. Por eso se llaman complejas, además el paciente no está con la conciencia clara, no se relaciona con el medio aunque no ha caído al suelo, porque no hay compromiso motor. El paciente puede hacer automatismos gestuales, masticatorios, y como la zona amigdalina está en relación con percepciones olfativas, el sujeto siente olores raros y hace gestos de saboreo con la boca. Mientras todo esto ocurre el paciente está alterado de la conciencia. Estas alucinaciones no aparecen en las crisis generalizadas. La signología depende de donde se origina la crisis. Por ejemplo, si se origina en la amígdala el sujeto tendrá estas alucinaciones olfatorias, y sentirá un olor verdaderamente desagradable. Luego vendrán los automatismos masticatorios, y aquí los pacientes ya no están conscientes; y después no guardan ningún recuerdo (González Astiazarán 1997).

La epilepsia de lóbulo temporal es una de las más frecuentes y una de las más curiosas. El lóbulo temporal tiene mucho que ver con el área psicológica, con los afectos, con los instintos, y los pacientes que presentan estas crisis a veces sienten un odio contra alguna persona, pudiendo llegar a agredirla. La clásica agresividad de los epilépticos a veces se debe a que las crisis ocurren en dichas estructuras cerebrales. Este tipo de crisis es frecuente ya que el área temporal es muy vulnerable a la hipoxia perinatal y es la más vulnerable a las convulsiones febriles. Los niños antes de los 5 años pueden convulsionar con la fiebre, tal y

como si fuera una epilepsia, las que con alguna frecuencia dañan la zona del hipocampo, dando origen a focos epileptógenos (González Astiazarán 1997).

#### **1.4 Modelos animales de epilepsia *in vivo***

Los modelos animales de convulsiones y de epilepsia han jugado un papel fundamental en nuestro entendimiento de los cambios fisiológicos y conductuales asociados con la epilepsia humana. La mayor parte de nuestros conocimientos sobre la epilepsia proviene de manera directa o indirecta de los estudios realizados en modelos animales de epilepsia experimental. Aunque muchas especies de animales pueden desarrollar convulsiones espontáneamente, estos casos son esporádicos y habitualmente no se presentan en los animales seleccionados para los experimentos. El modelo experimental nos permite reproducir muchas manifestaciones de la epilepsia clínica y sobre todo las convulsiones, fenómeno conductual que refleja hiperexcitabilidad cortical difusa y sostenida. Además el modelo experimental nos permite interpretar y fundamentar conceptos teóricos necesarios para entender los mecanismos que participan en el o los fenómenos epilépticos.

La motivación principal para la creación y desarrollo de modelos de epilepsia es la necesidad de rastrear y evaluar la efectividad de las drogas antiepilépticas (Fisher 1989; Loscher y Schmidt 1988). Entre los modelos

clásicos de epilepsia, el pentilentetrazol (PTZ) y choque eléctrico máximo (CEM) permiten detectar los efectos adversos de las drogas antiepilépticas (Meldrum 2002).

Como las epilepsias se dividen en epilepsias generalizadas y epilepsias parciales, los modelos animales de epilepsia también se dividen en dos grupos. El carácter del modelo (generalizado o parcial) depende tanto de las características del agente o factor convulsivante, como de su intensidad o dosis, vía y manera de su administración (aguda o crónica). Un mismo agente convulsivante puede inducir convulsiones generalizadas o parciales dependiendo de como es administrado. Por ejemplo, la aplicación aguda de choque eléctrico de alta intensidad se utiliza como modelo de epilepsia generalizada, mientras que la aplicación crónica de descargas eléctricas de baja intensidad (“kindling”) se utiliza como modelo de epilepsia parcial. Esta correlación entre la manera de administración de un convulsivante (aguda o crónica) y tipo de epilepsia que está reproduciendo en un animal se mantiene también en el caso de los convulsivantes químicos. La vía de administración de un convulsivante químico también puede determinar el tipo de la crisis. La aplicación de un cristal de 4-aminopiridina (4-AP), por ejemplo, sobre superficie del cerebro induce convulsiones parciales, mientras que la administración de una solución de 4-AP por vía intraperitoneal produce convulsiones generalizadas (Loscher 2002).

Existen diferentes modelos para inducir los diferentes tipos de epilepsia en los animales experimentales (Fisher 1989). El modelo generalizado tónico-clónico puede ser inducido de varias maneras. A saber, por aplicación de electrochoque máximo, por administración sistémica de convulsivantes químicos tales como el pentilentetrazol, bemegrade, picrotoxina, bicuculina y penicilina, por manipulaciones genéticas, o propiciando desórdenes metabólicos como hipoxia, hipoglucemia, oxígeno hiperbárico, hipercapnia, uremia e hipertermia. Para crear el modelo de ausencia generalizada se utiliza la estimulación talámica, el foco cortical bilateral, la administración sistémica de penicilina y la administración intraventricular de opiáceos entre otros métodos. Para obtener un modelo agudo de crisis parcial simple habitualmente se realizan aplicaciones tópicas cerebrales de algún convulsivante químico (penicilina, picrotoxina, bicuculina, estriquina, agentes anti-colinérgicos). Para obtener un modelo crónico de crisis parcial simple frecuentemente se utilizan implantes metálicos corticales de hidróxido de aluminio, cobalto, tungsteno, zinc o hierro, o también se practican lesiones cerebrales por congelación. Las crisis parciales complejas pueden ser reproducidas por “kindling” eléctrico o químico, por aplicación repetitiva de descargas eléctricas de baja intensidad o mediante la administración crónica de convulsivantes químicos a dosis bajas (que no provocan convulsiones inmediatamente), o por inyecciones intracerebrales de ácido kaínico, toxina tetánica, carbacol, glutamato o aspartato.

No obstante, los modelos principales y más comúnmente empleados para inducir crisis epilépticas son el choque eléctrico y el pentilentetrazol (White 1997; Sarkisian 2001). El tipo y la severidad de las convulsiones inducidas en estos dos modelos depende de la intensidad de la corriente en el caso del choque eléctrico y en el caso del PTZ de la dosis o la vía de inyección. Estos dos modelos son casi universalmente empleados hoy en día para rastrear compuestos con propiedades anticonvulsivantes, investigaciones de relaciones entre su estructura y actividad, “diseño racional de drogas” y otros abordajes de desarrollo de drogas antiepilépticas (White 2003). La popularidad del PTZ se debe a que este convulsivante induce convulsiones reproducibles, previsibles y cuantificables en los animales *in vivo*, además de que el patrón del EEG producido por PTZ en los animales es parecido al de los humanos (White 1998). ). El PTZ es un antagonista de los receptores del ácido gamma-amino butírico (GABA) en el sistema nervioso central (Macdonald y Barker 1977; Huang y col. 2001) y como tal disminuye el control sobre la excitabilidad neuronal e induce crisis epilépticas (Loscher 1991).

Además del PTZ, el otro agente convulsivante utilizado para inducir epilepsia experimental en los datos presentados en la presente tesis fue la 4-AP, que es conocida por su capacidad de inducir convulsiones generalizadas en el animal *in vivo* (Fragoso-Veloz y Tapia 1992; Peña y Tapia 2000; Shih y col. 2001; Chen y Lee 2002), presumiblemente aumentando la liberación de glutamato (Morales-Villagran y col. 1999).

## **1.5 Fármacos anticonvulsivantes**

### **1.5.1 Clasificación**

Los fármacos antiepilépticos pertenecen a grupos de composición heterogénea. Aunque existe cierta semejanza estructural entre algunos anticonvulsivantes, ellos no siempre comparten el mecanismo de acción o su espectro terapéutico.

Los fármacos utilizados para el tratamiento de las epilepsias en general se dividen en los conocidos como antiepilépticos tradicionales y los medicamentos antiepilépticos nuevos, que han tenido un desarrollo en los últimos años (Loscher 1998; Brodie 2001).

Los antiepilépticos tradicionales o clásicos incluyen a la carbamazepina, fenitoína, fenobarbital, primidona, ácido valproico, etosuximida y las benzodiazepinas, tales como el diazepam, midazolam, clorazepato y clonacepam. Los antiepilépticos nuevos incluyen a la lamotrigina, topiramato, oxcarbazepina, felbamato, gabapentina, tiagabina, vigabatrina, zonisamida y levetiracetam.

Dada la complejidad de la enfermedad epiléptica, no existe un consenso respecto al tratamiento medicamentoso y hay varios esquemas terapéuticos de farmacoterapia antiepiléptica. Clasificando los síndromes epilépticos en crisis parciales y generalizadas se puede utilizar un fármaco específico (Tabla 1).



**Tabla 1. Farmacoterapia anticonvulsivante según el síndrome epiléptico**

Síndrome/Crisis	1a elección	2a elección	3a elección
<b>Parciales</b>			
<i>Sintomatología elemental</i>	Fenitoína	Gabapentina	
<i>Complejas (Psicomotoras)</i>	Carbamazepina		
<i>Generalización secundaria</i>	Fenitoína	Fenobarbital	Gabapentina
<b>Generalizadas</b>			
<i>Tónico clónicas (Gran Mal)</i>	Fenitoína	Fenobarbital	Carbamazepina
<i>Ausencias (Pequeño Mal)</i>	Ácido Valproico	Etosuximida	
<i>Espasmos infantiles</i>	Fenobarbital		

Por ejemplo, para crisis generalizadas de ausencias o pequeño mal, el fármaco de primera elección es el ácido valproico y, si no ceden las crisis, se puede utilizar como segunda elección la etosuximida.

### 1.5.2 Mecanismos generales de acción de los antiepilepticos

Con base en su mecanismo de acción, los antiepilepticos pueden ser divididos en dos grupos principales (Pranzatelli y Nadi 1995; Loscher 1998). Los que actúan sobre canales iónicos, principalmente como bloqueadores de los canales de sodio, y los que actúan sobre receptores

de neurotransmisores, principalmente aumentando la transmisión GABAérgica.

Los fármacos anticonvulsivantes más eficaces y más comúnmente utilizados en la clínica que incluyen a la fenitoina, fenobarbital, primidona, carbamazepina, ácido valproico, lamotrigina, topiramato, oxcarbazepina, felbamato presumiblemente actúan como bloqueadores de los canales de sodio. El bloqueo de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  la apertura de canales de  $\text{K}^{+}$  también se han sugerido como posibles mecanismos de acción de algunos anticonvulsivantes (Loscher 1998).

La potenciación de la acción del GABA puede lograrse de distintas formas. El fármaco anticonvulsivante puede actuar como agonista de los receptores  $\text{GABA}_A$ , puede inhibir a la GABA-transaminasa, que es la enzima encargada de degradar al GABA o puede inhibir la recaptura de GABA aumentando su concentración en el espacio sináptico. Varias benzodiazepinas y algunos de los antiepilépticos de la nueva generación tales como la tiagabina, vigabatrina y gabapentina presumiblemente actúan aumentando la transmisión GABAérgica. Otro mecanismo que podría resultar potencialmente útil contra la actividad epiléptica cerebral sería la disminución de la transmisión excitatoria con fármacos antagonistas de los receptores glutamatérgicos. Sin embargo, los estudios en animales experimentales demuestran que los antagonistas glutamatérgicos causan muchos efectos adversos a las dosis necesarias para suprimir las convulsiones (Pranzatelli y Nadi 1995).

### **1.5.3 Efectos adversos**

La medicación con las drogas antiepilépticas tanto de la vieja como de la nueva generación, aunque ejerce un efecto positivo en el control de las convulsiones (cuando menos en aproximadamente el 70% de los pacientes epilépticos), causa diferentes efectos adversos (Vermeulen y Aldenkamp 1995; Gates 2000; Brunbech y Sabers 2002; Schmidt 2002). Según una creciente bibliografía la mayor parte de las drogas anticonvulsivantes tienen efectos neurotóxicos adversos, tales como náuseas, diplopía, vértigo, dolor de cabeza, fatiga, cansancio y ataxia, que son dosis-dependientes (Perucca y col. 2000; Brodie 2001). Estos fenómenos son tan comunes, que los pacientes y sus médicos creen que son acompañantes inevitables de una terapia exitosa. Los efectos relacionados con la dosis como la sedación, las alteraciones cognitivas y la depresión, comúnmente ocurren con los barbitúricos y las benzodiazepinas, mientras que son menos frecuentes con la carbamazepina y el valproato. Los barbitúricos y las benzodiazepinas, también producen hiperactividad en niños y están asociados con irritabilidad, conductas agresivas y confusión en adultos. La fenitoína y el valproato, pueden producir encefalopatía progresiva con un impedimento reversible de las funciones intelectuales. Los cambios de personalidad y psicosis inducidos por drogas ocurren más comúnmente con primidona y etosuximida, mientras la depresión comúnmente inducida por fenasemida

limita grandemente su uso. Todas las drogas antiepilépticas exacerbaban los síntomas de porfiria, la que da origen a síntomas psiquiátricos. Todos los medicamentos antiepilépticos a dosis elevadas pueden producir disturbios específicos cognitivos, tales como la afasia y deficiencias en la memoria reciente. Estos efectos dependientes de la dosis son reversibles (Gates 2000; Kwan y Brodie 2001; Brunbech y Sabers 2002; Schmidt 2002).

## 1.6 La vinpocetina

La vinpocetina, cuya fórmula se muestra en la figura 5, es una droga nootrópica que no presenta contraindicaciones en el humano incluso a dosis elevadas (Hindmarch y col. 1991) y que se usa en la clínica para disfunciones cardiovasculares leves y problemas de memoria (Bhatti y Hindmarch 1987).

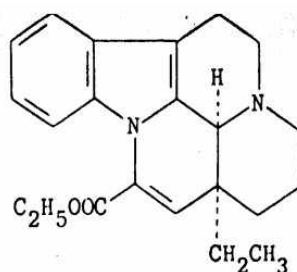


Figura 5 . Fórmula semidesarrollada de la vinpocetina.

Los estudios neuroquímicos y farmacológicos indican que la disminución en la transmisión sináptica GABAérgica y primordialmente la excesividad en la transmisión sináptica glutamatérgica contribuyen a la

patofisiología de la epilepsia (Bradford 1995; Obrenovitch y Urenjak 1997). En trabajos recientes *in vitro*, realizados en colaboración con el grupo de la Dra. María Sitges, hemos demostrado que la vinpocetina bloquea a los canales presinápticos de sodio sensibles a voltaje (CSSV) e inhibe la liberación de neurotransmisores, incluyendo a los aminoácidos excitatorios, glutamato y aspartato, mediada por reversión de sus transportadores (Sitges y Nekrassov 1999; Trejo y col. 2001), cuya concentración es particularmente abundante (Sitges y col. 2000). Varios estudios sugieren que los bloqueadores de los CSSV son agentes anticonvulsivantes potenciales (Ragsdale y Avoli 1998). Aunque es de esperarse que la modulación negativa de los CSSV suprima la excitabilidad neuronal anormal asociada con los ataques epilépticos, la inhibición de dichos canales con fármacos como la vinpocetina no ha sido considerada entre las alternativas para el tratamiento de la epilepsia. Las evidencias experimentales que indican el alto potencial neuroprotector de la vinpocetina (King 1987; Sauer y col. 1988; Bönöczk y col. 2000) y nuestros hallazgos *in vivo*, que demuestran que la vinpocetina protege contra el aumento en el umbral auditivo y de los cambios en los PAETC inducidos por el antibiótico aminoglicósido, amikacina (Nekrassov y Sitges 2000) hacen muy prometedor el uso de la vinpocetina como agente anticonvulsivante.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En pacientes con epilepsia generalizada se han encontrado anormalidades en las latencias y amplitudes de algunas ondas tardías de los PAETC y también se ha reportado una elevada frecuencia de hipoacusia en pacientes con epilepsia generalizada (Soliman y col. 1993). No obstante, no existen estudios sistemáticos en donde se haya explorado directamente la participación de las estructuras auditivas del tallo cerebral en la epilepsia. Por lo que en el primer estudio presentado en esta tesis se investigó el efecto de la epilepsia generalizada sobre los parámetros de las diferentes ondas de los PAETC y sobre la sensibilidad auditiva. Esto se hizo con el propósito de determinar si la epilepsia por sí misma es capaz de alterar la audición.

La epilepsia afecta por lo menos a 50 millones de personas en el mundo (Scheuer y Pedley 1990). Los fármacos antiepilépticos existentes, aunque previenen de los riesgos derivados de las convulsiones, desafortunadamente producen efectos adversos a dosis terapéuticas. En otras palabras, la medicación con las drogas antiepilépticas tanto de la vieja como de la nueva generación, aunque ejerce un efecto positivo en el control de las convulsiones cuando menos en aproximadamente el 70% de los pacientes epilépticos, causa un deterioro de las funciones cognitivas, particularmente desórdenes de memoria (Vermeulen y Aldenkamp 1995; Gates 2000; Brunbech y Sabers 2002; Schmidt 2002), que debe agravar el

deterioro en la cognición que causa la propia enfermedad (Prevey y col. 1998; Jokeit y Ebner 1999; Theodore y col. 1999; Meador 2001). Estos efectos no deseados hacen que incluso en algunos casos de epilepsia benigna el tratamiento no sea indicado, pues el riesgo de los efectos secundarios sobrepasa al beneficio del control de posibles convulsiones (Perucca y col. 2000).

Tomando en cuenta lo anterior y que varios de los anticonvulsivantes disponibles también inducen prolongación de las latencias de algunas ondas de los PAETC (Mervaala y col. 1987; Hirose y col. 1990; Japaridze y col. 1993), es indispensable encontrar fármacos antiepilépticos que carezcan de efectos adversos, particularmente relacionados con la memoria y la audición.

En los otros dos estudios presentados en los resultados de esta tesis se investigó el efecto de la vinpocetina sobre las alteraciones de los parámetros de las diferentes ondas de los PAETC y sobre la disminución de la sensibilidad auditiva que se producen tras la inducción de la epilepsia experimental con 2 agentes convulsivantes distintos.

### **3. HIPÓTESIS**

La epilepsia por sí misma puede producir pérdida del oído alterando el funcionamiento de las estructuras neuronales en el tracto auditivo del tallo cerebral.

Los bloqueadores de los CSSV, como la vinpocetina, deben reducir la excitabilidad neuronal excesiva que se asocia con la sobre-estimulación de la liberación de glutamato durante las convulsiones y proteger contra las alteraciones auditivas que acompañan a la epilepsia.

### **4. OBJETIVOS**

- Investigar si la epilepsia es capaz de producir pérdida del oído.
- Definir el patrón de alteraciones de las ondas de los PAETC que acompañan a la pérdida del oído.
- Investigar el potencial antiepiléptico de la vinpocetina.

### **5. METAS**

- Determinar de qué manera se ven afectados los diferentes generadores de las ondas de los PAETC después de las convulsiones, en el periodo post-ictal.
- Determinar los efectos de la vinpocetina sobre las ondas de los PAETC y sobre la sensibilidad auditiva en modelos de epilepsia .



## **6. MATERIAL Y METODOS**

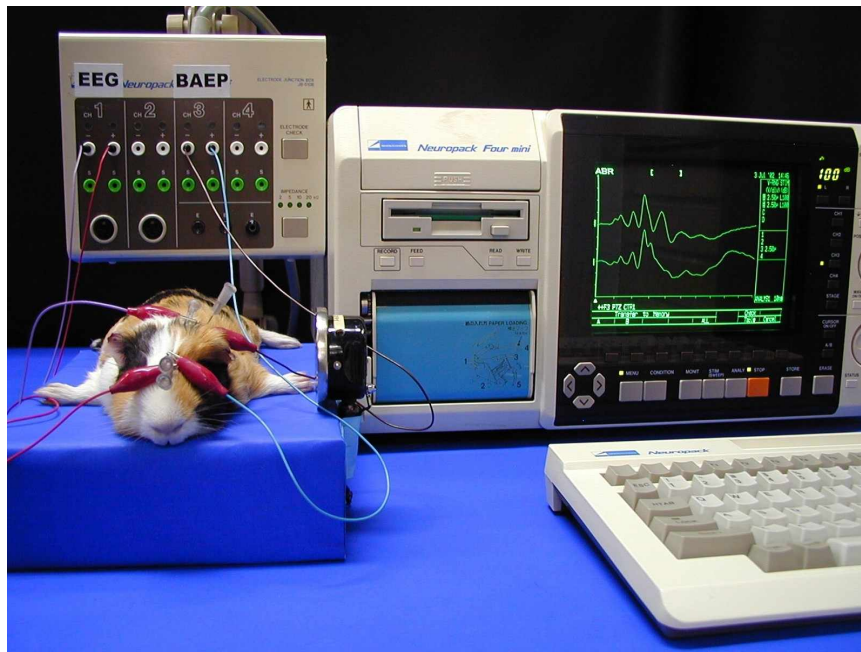
### **6.1 Modelo animal**

La investigación experimental fue realizada en 16 cobayos machos, pigmentados, adultos, de 200 a 400 g de peso corporal, obtenidos del Bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM y clínicamente sanos. Los animales se mantuvieron en condiciones ambientales controladas de temperatura ( $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) y de humedad relativa ( $55 \pm 3\%$ ) e iluminación (ciclos de luz-obscuridad, 12 x 12 h) y con acceso libre al agua y al alimento.

Los animales se anestesiaron con una mezcla de ketamina (50 mg/kg de peso corporal) y xilazina (10 mg/kg de peso corporal) por vía intramuscular. Para el registro de los PAETC se colocaron electrodos de acero subcutáneamente, un electrodo detrás del oído externo (de referencia) y el otro en el vertex (activo). Para el registro del EEG los electrodos se colocaron, uno en el área parietal (de referencia) y otro entre la línea media y la órbita del ojo (activo). En todos los animales anestesiados se practicaron 3 tipos de registros. A saber, los registros de los PAETC inducidas por un estímulo monoaural de tono puro y alta intensidad (100 dB), los registros de los PAETC inducidos por estímulos monoaurales de tono puro y de intensidades decrecientes para determinar el umbral auditivo, y el EEG para determinar la actividad cortical.

## 6.2 Equipo

El equipo que se utilizó para registrar los PAETC fue el Neuropack IV Mini que se ilustra en la figura 6. Este mismo equipo también se utilizó para registrar el EEG, ajustando el tiempo de registro a 40 segundos en 4 tomas de 10 segundos cada una. Los registros de los PAETC y del EEG obtenidos en cada animal antes y después de la inyección de un determinado agente convulsivante fueron guardados en discos flexibles para su cuantificación posterior. Las mediciones de los parámetros de los PAETC y el EEG también se realizaron en el Neuropack IV Mini. Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos se utilizó el programa Excel y para la elaboración de las gráficas el programa Sigma plot.



*Figura 6. Neuropack IV Mini (Foto tomada en el laboratorio por el autor de la tesis)*

### **6.3 Registros de los efectos de agentes convulsivantes**

Los 16 cobayos machos que se incluyeron en este estudio se dividieron en dos grupos. La mitad de los animales se utilizó para examinar los efectos del PTZ y la otra mitad para examinar los de la 4-AP. Después de obtener los registros control en los animales anestesiados, los animales se inyectaron con el agente convulsivante a examinar y se tomó otra serie de registros de EEG y de PAETC a diferentes tiempos después de la inyección del agente convulsivante. El PTZ se administró a una dosis de 100 mg/kg y la 4-AP a una dosis de 2 mg /kg de peso corporal, ambos por vía intraperitoneal. Los registros de EEG y los registros de los PAETC evocados por el estímulo de alta intensidad (100 dB) se tomaron después de 10, 20, 30 40 y 50 min de la inyección de PTZ y después de 30, 60, 80 y 100 min de la inyección de 4-AP. Para determinar el umbral auditivo los registros se obtuvieron después de 30 y 60 min de inyectar ambos agentes convulsivantes. Todos los animales, antes de ser estudiados con los convulsivantes, fueron registrados de tal manera que cada uno sirvió como su propio control.

### **6.4 Registros de acción de la vinpocetina sobre los efectos del PTZ**

Cuatro horas después de inyectar a los cobayos con vehículo (salina acidificada que se usó para disolver la vinpocetina), los animales

se anestesiaron y se tomó una primera serie de registros de PAETC y de EEG antes de inyectar al agente convulsivo, PTZ intraperitonealmente (i.p.). Los animales se inyectaron con 100 mg/kg de PTZ y aproximadamente a los 2 min después de haber inyectado el PTZ (periodo ictal) se registró el EEG, luego se tomaron otras series de registros de PAETC y EEG a tiempos específicos (dentro del periodo post-ictal). Después de un par de semanas se repitió la misma serie de tomas de registros pero en vez del vehículo los animales se inyectaron con 2 mg/kg de vinpocetina 4 horas antes de inyectar el PTZ.

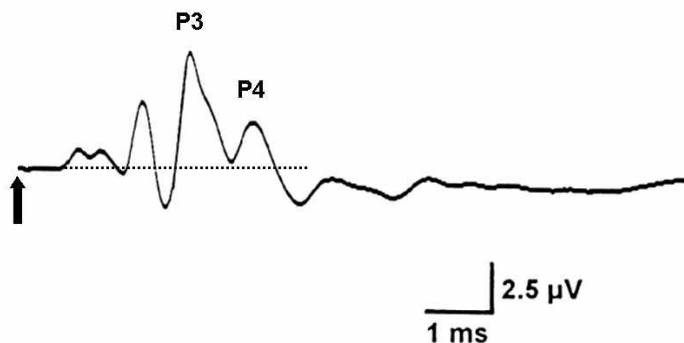
### **6.5 Registros de acción de la vinpocetina sobre los efectos de la 4-AP**

Una hora después de inyectar a los cobayos con vehículo (salina acidificada que se usa para disolver la vinpocetina), los animales se anestesiaron y se tomó una primera serie de registros de PAETC y EEG antes de inyectar el agente convulsivo, 4-AP i.p. Los animales se inyectaron con 2 mg/kg de 4-AP y aproximadamente a los 20 min después de haber inyectado la 4-AP (periodo ictal) se registró el EEG, luego se tomaron otras series de registros de PAETC y EEG a tiempos específicos (dentro del periodo post-ictal). Después de un par de semanas se repitió la misma serie de tomas de registros pero en vez del vehículo los animales

se inyectaron con 2 mg/kg de vinpocetina 1 hora antes de inyectar la 4-AP.

## 6.6 Determinación de los parámetros de las ondas de los PAETC

Las latencias y amplitudes de cada onda de la PAETC, inducida por el estímulo de 100 dB a frecuencias de tonos puros de 8 y 4 kHz, se midieron en todos los PAETC obtenidas a tiempos específicos bajo las diferentes condiciones experimentales a estudiar. La latencia de cada onda en milisegundos (ms) se refiere al intervalo de tiempo entre el inicio del estímulo auditivo y el pico positivo de la onda. El inicio del estímulo está indicado por la flecha debajo del registro que se muestran en la figura 7. La amplitud al pico de cada onda se mide en microvoltios ( $\mu\text{V}$ ) y es la diferencia entre el pico positivo y la línea base (trazo entre el estímulo y la aparición de la primera onda del PAETC en la Fig. 7).



**Figura 7. Registro de los PAETC.** Este registro se tomó en un animal representativo antes de inyectar al agente convulsivante. El animal recibió un estímulo monoaural (indicado por la flecha) de 100 decibeles (dB) a una frecuencia de 8 kilohertz (kHz) de tono puro.

## **6.7 Determinación del umbral auditivo**

Para determinar el umbral auditivo se registraron los PAETC inducidos por estímulos de intensidades progresivamente menores (en decibeles, dB), hasta llegar a intervalos de 5 dB cerca del umbral. El umbral auditivo se define como la intensidad de estímulo más baja que permite registrar la onda P3 de la PAETC en tres intentos consecutivos.

## **6.8 Análisis estadístico de los resultados**

Para evaluar las diferencias entre los resultados obtenidos antes y a tiempos específicos después de la inyección de los agentes convulsivante, se empleó la prueba estadística t de Student. El criterio de significancia estadística adoptado fue de  $P \leq 0.05$ . Los datos están expresados como la media  $\pm$  error estándar. En las figuras y tablas se utiliza un asterisco para indicar diferencias estadísticamente significativas.

## **7. RESULTADOS**

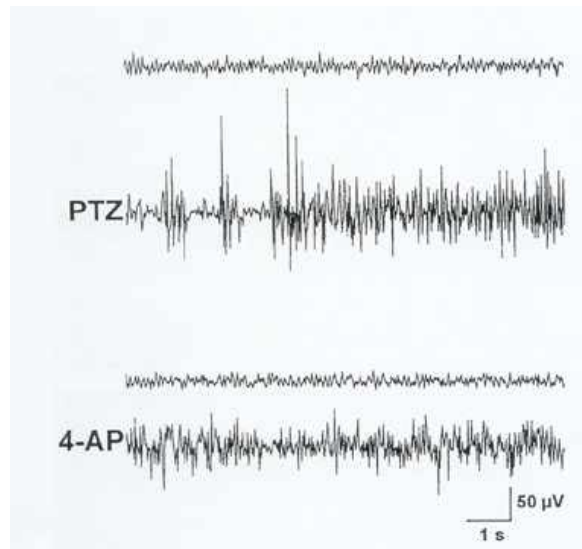
Los resultados presentados en esta tesis fueron organizados en 3 partes. En la primera se analiza el efecto de los agentes convulsivantes, PTZ y 4-AP sobre los PAETC y la sensibilidad auditiva. En la segunda parte se incluyen los datos obtenidos al estudiar el efecto de la vinpocetina sobre los cambios en los PAETC y el EEG, que induce la epilepsia resultante de una reducción en la transmisión cerebral inhibitoria inducida con el antagonista GABAérgico, PTZ; y en la última parte los datos obtenidos al estudiar el efecto de la vinpocetina sobre los cambios en los PAETC y el EEG, que induce la epilepsia resultante de un aumento en la transmisión cerebral excitadora con el agente convulsivante 4-AP.

### **7.1 Efecto de la epilepsia farmacológica sobre los PAETC y la sensibilidad auditiva.**

En los resultados que se presentarán a continuación se comparan los efectos de los agentes convulsivantes, PTZ y 4-AP, sobre el registros del EEG y de los PAETC.

Todos los animales inyectados con PTZ o con 4-AP desarrollaron convulsiones generalizadas. El inicio de la actividad convulsivante se identificó en cada animal por medio del EEG. Durante los 2 primeros minutos después de la inyección de PTZ los animales repentinamente presentaban convulsiones generalizadas caracterizadas por espigas

repetitivas agudas de elevada amplitud en el EEG. En los dos trazos superiores de la figura 8 se muestra la actividad cortical control seguida, en el segundo trazo, de la actividad cortical durante las convulsiones inducidas por PTZ en un animal representativo.



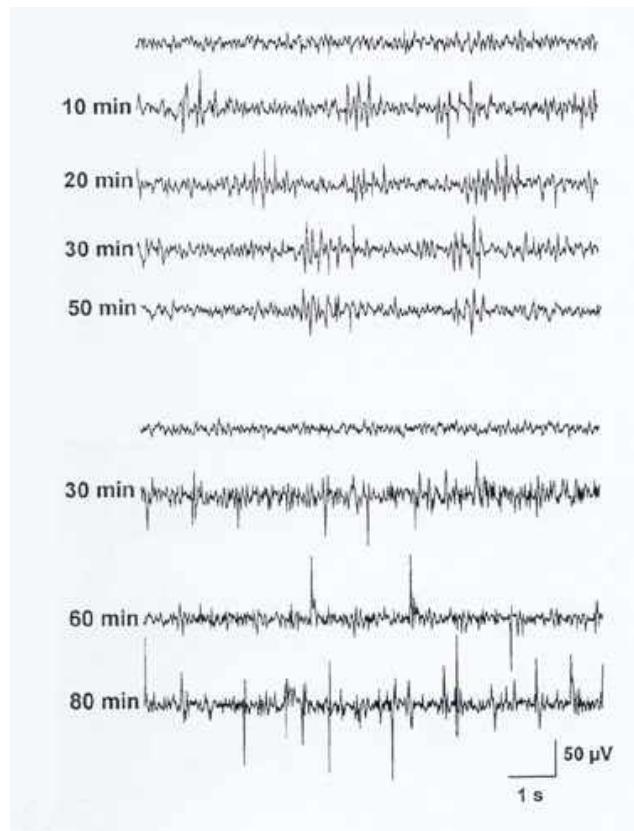
**Figura 8 . EEG antes y durante las convulsiones generalizadas inducidas por PTZ o 4-AP.**

Los animales inyectados con 4-AP también desarrollaron convulsiones generalizadas. Sin embargo, éstas aparecían aproximadamente 20 minutos después de la inyección de la 4-AP y se caracterizaban por espigas repetitivas agudas de elevada amplitud en el EEG como se muestra en el último trazo de la figura 8.

La actividad cortical que inducen el PTZ y la 4-AP durante las convulsiones mostrada en la figura 8 es seguida por otro patrón típico de actividad cortical caracterizado, en el caso del PTZ, por salvas de espigas



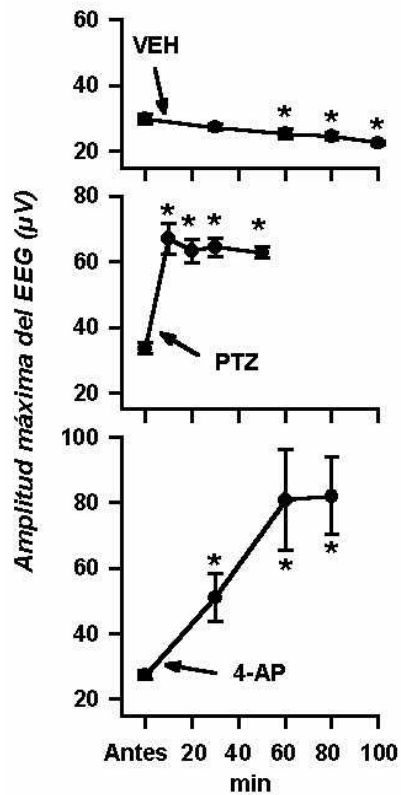
rítmicas de alta amplitud, y en el caso de la 4-AP, por espigas aisladas de alta amplitud. El tiempo de duración de este patrón típico de actividad cortical que no se acompaña de convulsiones se denomina periodo post-ictal. En los trazos superiores de la figura 9 se muestran registros característicos del EEG en condiciones control (i.e. trazos superiores antes de la inyección de los convulsivantes) y a los tiempos indicados durante el periodo post-ictal.



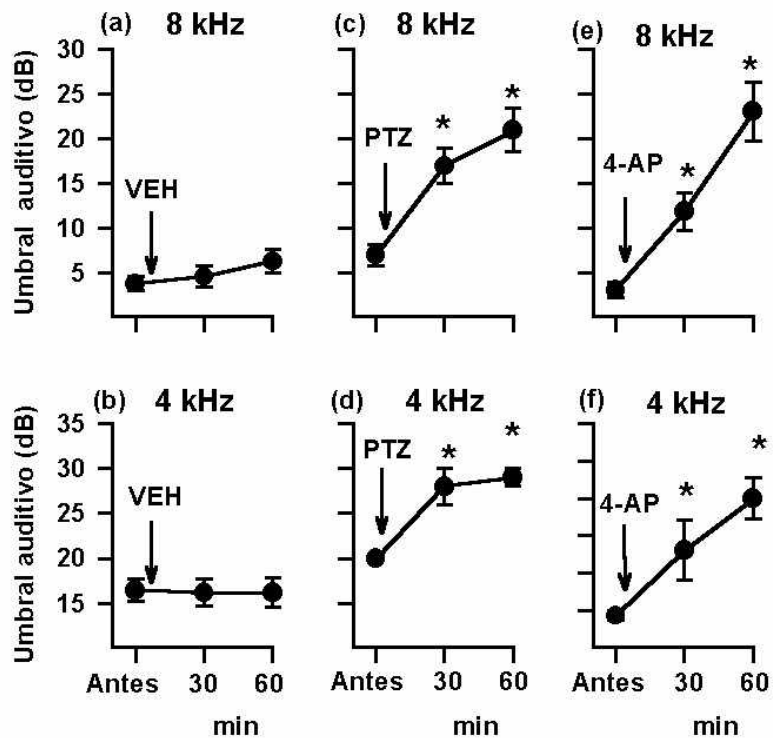
**Figura 9 . Registros de EEG antes y durante el periodo post-ictal.** *Los trazos superiores indican la actividad cortical inducida por PTZ y los trazos de abajo indican la actividad cortical inducida por 4-AP a los tiempos indicados.*

Esto es 10, 20, 30 y 50 min después de la inyección de PTZ en el grupo de trazos que se muestra en la parte superior de la figura 9; y 30, 60 y 80 min después de la inyección de 4-AP en el grupo de trazos de la parte de abajo de la figura 9.

Con el propósito de cuantificar los cambios en la actividad cortical inducidos por los agentes convulsivantes durante el tiempo de duración del periodo post-ictal se midió la amplitud máxima del EEG. Los resultados de este análisis se muestran en la figura 10.



**Figura 10 . Aumento en la amplitud máxima del EEG inducido por el PTZ y la 4-AP durante el periodo post-ictal. \***, diferencia estadísticamente significativa entre los resultados obtenidos antes y después de la inyección del agente indicado sobre cada flecha.

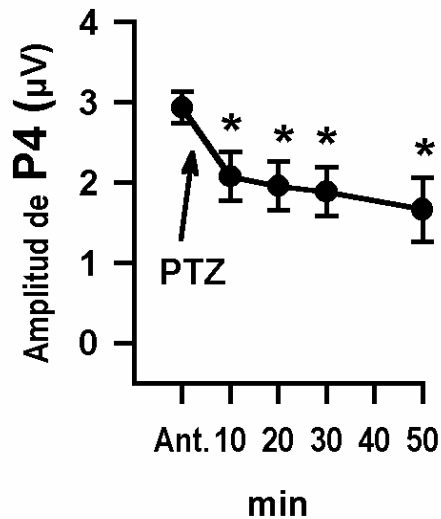


**Figura 11 . El PTZ y la 4-AP aumentan marcadamente el umbral auditivo durante el periodo post-ictal. \*** *diferencia estadísticamente significativa entre los umbrales obtenidos antes y después de la inyección del agente indicado sobre cada flecha.*

Como no se detectaron diferencias entre los datos obtenidos con ambos vehículos, éstos se promediaron juntos. En las gráficas a y b de la figura 11 se muestra que el vehículo no modifica el umbral auditivo a las frecuencias de 8 y 4 kHz, mientras que el umbral auditivo a 8 y 4 kHz se aumenta pronunciadamente tras la inyección de PTZ (Figs. 11c y d) o de 4-AP (Figs. 11e y f).

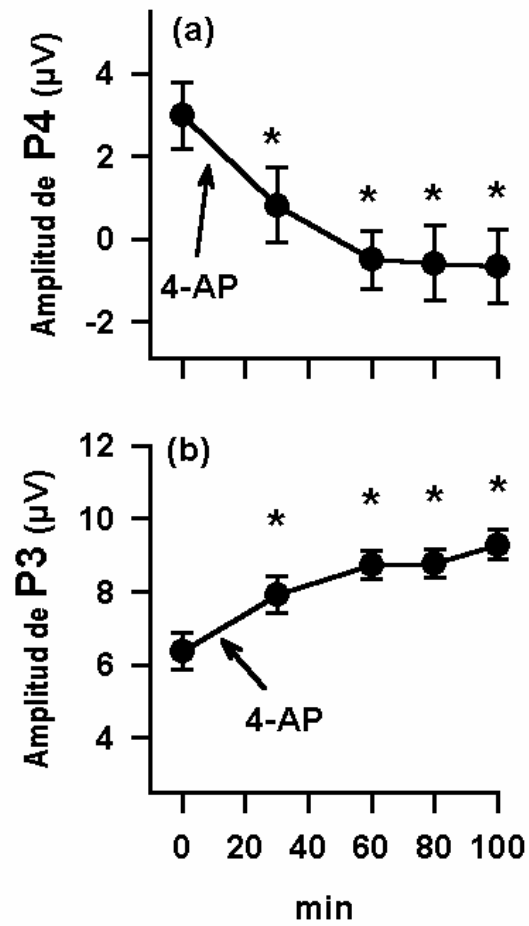
Cuando medimos el efecto del PTZ sobre la amplitud de las diferentes ondas de los PAETC evocados por el estímulo de 100 dB a una frecuencia

de 8 kHz encontramos que este agente convulsivo reduce la amplitud de la onda P4 de los PAETC como se muestra en la figura 12.



**Figura 12.** El PTZ disminuye la amplitud de la onda P4 de los PAETC inducidos por un estímulo de 100 dB a 8 kHz. . \*, diferencia estadísticamente significativa entre los umbrales obtenidos antes y después de la inyección del PTZ.

Cuando medimos el efecto de la 4-AP sobre la amplitud de las diferentes ondas de los PAETC evocados por el estímulo de 100 dB a una frecuencia de 8 kHz encontramos que este agente convulsivante además de reducir la amplitud de la onda P4 de los PAETC, como se ilustra en la figura 13 a, aumenta marcadamente la amplitud de la onda P3 de los PAETC (Fig. 13 b).



**Figura 13 .** Efecto de la 4-AP sobre la amplitud de las ondas P4 y P3 de los PAETC inducidos por el estímulo de 100 dB a 8 kHz \*, diferencia estadísticamente significativa entre los umbrales obtenidos antes y después de la inyección de la 4-AP.

Cuando medimos el efecto del PTZ sobre la latencia de las diferentes ondas de los PAETC evocados por el estímulo de 100 dB a las frecuencias de 8 y 4 kHz encontramos que este agente convulsivante aumenta las latencias de varias ondas de los PAETC (Tabla 2).

Tabla 2.

**La PTZ aumenta las latencias<sup>a</sup> de las ondas P2, P3 y P4 a 100 dB**

<b>Latencia de P2</b>	<b>8 kHz</b>	<b>4 kHz</b>
<i>Antes</i>	1.87 ± 0.02	1.88 ± 0.02
10 min	1.93 ± 0.01 *	1.93 ± 0.01 *
20 min	1.94 ± 0.01 *	1.95 ± 0.01 *
30 min	1.95 ± 0.01 *	1.95 ± 0.02 *
50 min	1.93 ± 0.02 *	1.94 ± 0.02 *

<b>Latencia de P3</b>	<b>8 kHz</b>	<b>4 kHz</b>
<i>Antes</i>	2.51 ± 0.02	2.52 ± 0.02
10 min	2.59 ± 0.02 *	2.59 ± 0.02 *
20 min	2.61 ± 0.02 *	2.60 ± 0.02 *
30 min	2.62 ± 0.02 *	2.61 ± 0.02 *
50 min	2.60 ± 0.02 *	2.60 ± 0.02 *

<b>Latencia de P4</b>	<b>8 kHz</b>	<b>4 kHz</b>
<i>Antes</i>	3.49 ± 0.02	3.51 ± 0.02
10 min	3.58 ± 0.05 *	3.60 ± 0.02 *
20 min	3.60 ± 0.05 *	3.61 ± 0.03 *
30 min	3.60 ± 0.04 *	3.62 ± 0.03 *
50 min	3.62 ± 0.05 *	3.62 ± 0.04 *

<sup>a</sup> los resultados son el promedio ± error en ms de datos obtenidos de 8 animales

*Antes* se refiere a los valores control antes de la administración de la PTZ

\*, Diferencia significativa entre las latencias de las ondas antes y a los tiempos indicados después de la inyección de la PTZ

Cuando medimos el efecto de la 4-AP sobre la latencia de las diferentes ondas de los PAETC evocados por el estímulo de 100 dB a las frecuencias de 8 y 4 kHz encontramos que este agente convulsivo aumenta la latencia de la onda P4 de los PAETC (Tabla 3) sin modificar las latencias de las otras ondas.

Tabla 3

***La 4-AP aumenta la latencia<sup>a</sup> de la onda P4 a 100 dB***

<b><i>Latencia de P4</i></b>	<b><i>8 kHz</i></b>	<b><i>4 kHz</i></b>
<i>Antes</i>	<i>3.48 ± 0.06</i>	<i>3.50 ± 0.02</i>
<i>30 min</i>	<i>3.51 ± 0.13</i>	<i>3.58 ± 0.11</i>
<i>60 min</i>	<i>3.80 ± 0.10 *</i>	<i>3.78 ± 0.09 *</i>
<i>80 min</i>	<i>3.80 ± 0.10 *</i>	<i>3.78 ± 0.09 *</i>
<i>100 min</i>	<i>3.83 ± 0.12 *</i>	<i>3.74 ± 0.10 *</i>

<sup>a</sup> los resultados son el promedio ± error en ms de datos obtenidos de 4 animales  
*Antes* se refiere a los valores control antes de la administración de la 4-AP  
 \*, Diferencia significativa entre las latencias de P4 antes y a los tiempos indicados después de la inyección de la 4-AP

**2. Efecto de la vinpocetina sobre los cambios en los PAETC y el EEG que induce el PTZ**

La tabla 4 muestra que la vinpocetina inhibe la reducción en la amplitud de la onda P4 de los PAETC que provoca el PTZ . En los animales

control (pre-inyectados con vehículo) la amplitud de la onda P4 inducida por el estímulo de 100 dB a 2 frecuencias (8 y 4 kHz) se reduce progresivamente después de la inyección del PTZ (columnas de la izquierda), mientras que en los animales pre-inyectados con vinpocetina la reducción que produce el PTZ

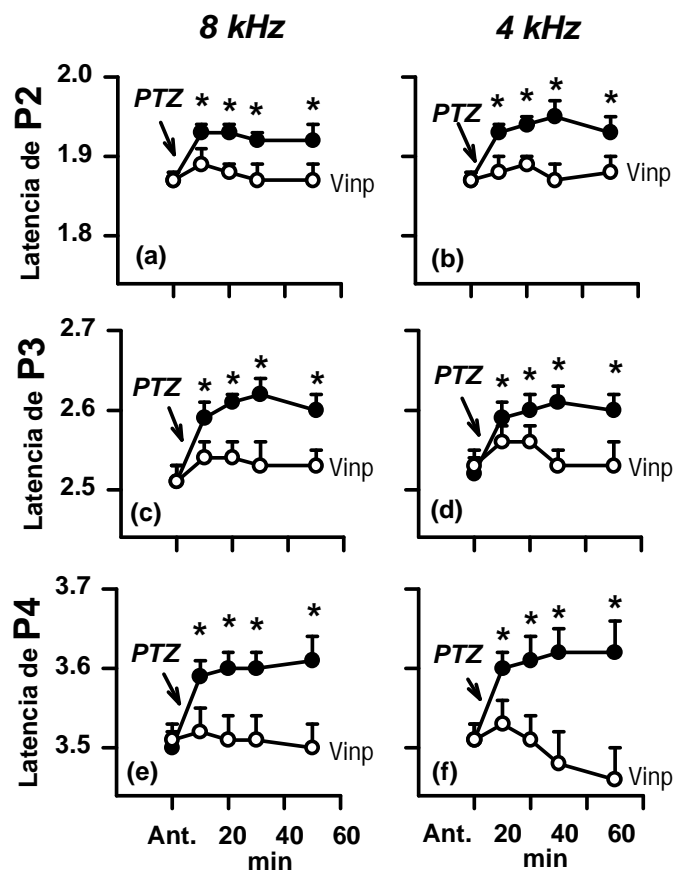
**Tabla 4. La vinpocetina inhibe la reducción en la amplitud de la onda P4 de los PAETC que provoca el PTZ**

	<b>8 kHz PTZ</b>	<b>8 kHz Vinpocetina + PTZ</b>
<i>Antes</i>	$2.88 \pm 0.1$	$2.69 \pm 0.1$
<i>10 min</i>	$2.07 \pm 0.4^*$	$2.56 \pm 0.1$
<i>20 min</i>	$1.99 \pm 0.3^*$	$2.71 \pm 0.2$
<i>30 min</i>	$1.92 \pm 0.3^*$	$2.55 \pm 0.2$
<i>50 min</i>	$1.51 \pm 0.5^*$	$2.56 \pm 0.1$
	<b>4 kHz PTZ</b>	<b>4 kHz Vinpocetina + PTZ</b>
<i>Antes</i>	$3.14 \pm 0.1$	$2.82 \pm 0.3$
<i>10 min</i>	$1.70 \pm 0.5^*$	$2.55 \pm 0.3$
<i>20 min</i>	$2.12 \pm 0.4^*$	$2.52 \pm 0.2$
<i>30 min</i>	$1.84 \pm 0.4^*$	$2.55 \pm 0.2$
<i>50 min</i>	$2.11 \pm 0.3^*$	$2.52 \pm 0.2$



en la amplitud de P4 no se observa (columnas de la derecha). Los valores que se muestran en la tabla representan el promedio  $\pm$  error estándar de las amplitudes en  $\mu\text{V}$  de la onda P4 obtenidas en 8 animales antes y a los tiempos indicados después de la inyección del agente convulsivo (PTZ).

La figura 14 muestra que la vinpocetina también inhibe el aumento que



**Figura 14.** La vinpocetina inhibe el aumento en las latencias de las ondas P2, P3 y P4 de los PAETC que induce el PTZ. Las latencias de las ondas inducidas por estímulos de 100 dB a frecuencias de 8 kHz (gráficas de la izquierda) y de 4 kHz (gráficas de la derecha) se determinaron antes (Ant.) y 10, 20, 30 y 50 min después de la inyección del PTZ en animales control pre-inyectados con vehículo (círculos negros) y en animales pre-inyectados con 2mg/kg de vinpocetina (círculos vacíos). \*, diferencia estadísticamente significativa entre las latencias obtenidas antes y después de la inyección del PTZ.

se produce tras la inyección del PTZ en las latencias de las ondas P2, P3 y P4 de los PAETC inducidos por el estímulo de 100 dB a las frecuencias de 8 y 4 kHz.

La tabla 5 muestra que la vinpocetina inhibe la pérdida del oído que induce el agente convulsivo, PTZ. El aumento pronunciado del umbral auditivo que produce el PTZ a las frecuencias de 8 y 4 kHz (columnas de la izquierda) no se produce en los animales pre-inyectados con vinpocetina antes de la administración del PTZ (columnas de la derecha). Los valores que se muestran en la tabla 5 son el promedio  $\pm$  error de los umbrales en dB obtenidos en 8 animales.

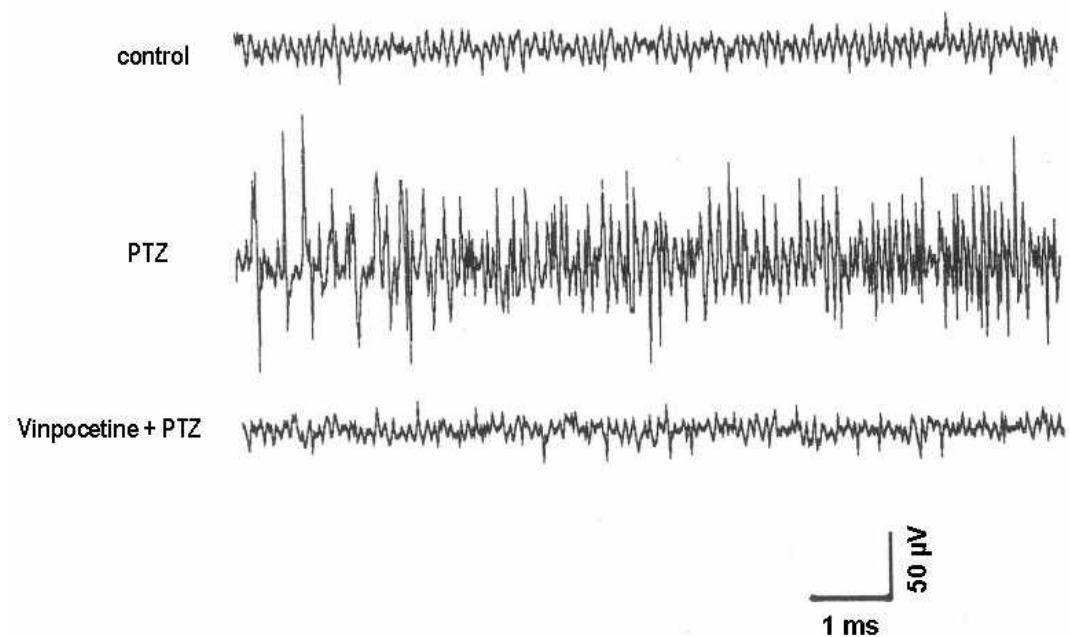
**Tabla 5.**

**La vinpocetina inhibe la pérdida del oído que induce el PTZ**

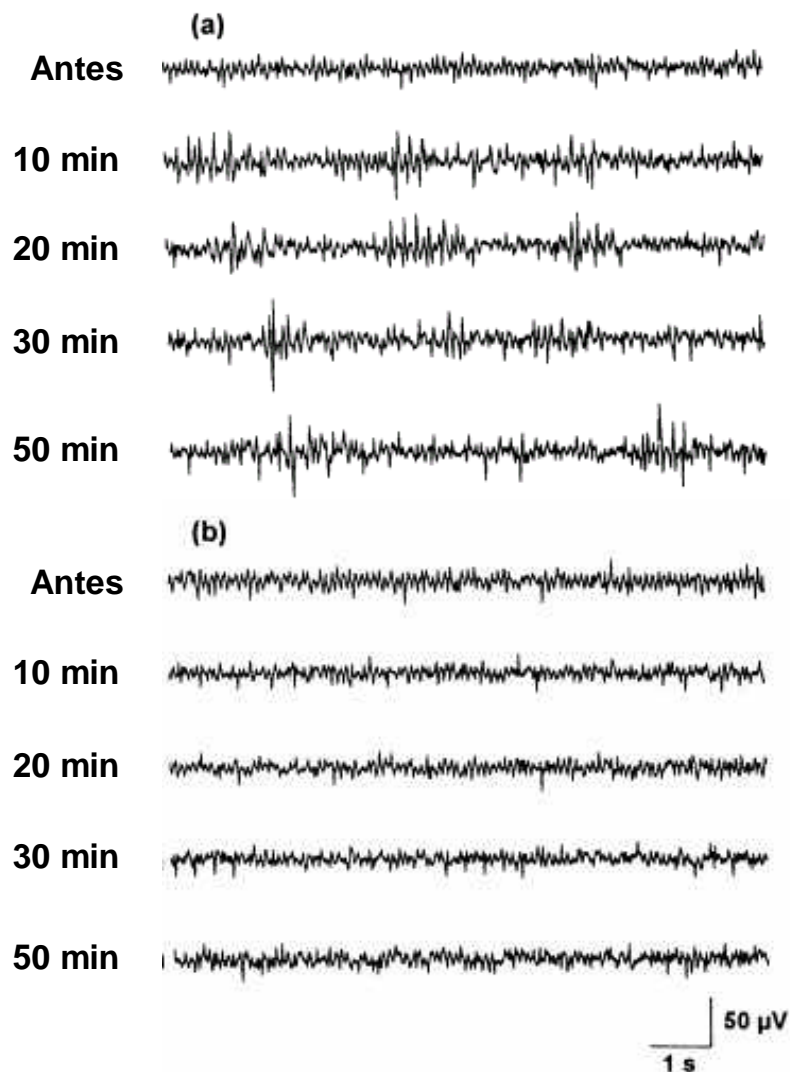
	<b><i>PTZ</i></b>	<b>Vinpocetina + PTZ</b>
<b>8 kHz</b>		
<i>Antes</i>	$7.0 \pm 1.2$	$6.0 \pm 1.0$
<i>30 min</i>	$17 \pm 2.0^*$	$6.0 \pm 1.0$
<i>50 min</i>	$21 \pm 2.4^*$	$6.0 \pm 1.0$
<b>4 kHz</b>		
<i>Antes</i>	$21 \pm 1.0$	$20 \pm 1.6$
<i>30 min</i>	$28 \pm 2.0^*$	$18 \pm 1.2$
<i>50 min</i>	$29 \pm 1.0^*$	$18 \pm 1.2$

La vinpocetina inhibe todos los cambios que induce el PTZ en el EEG. Todos los animales anestesiados inyectados con PTZ desarrollaron convulsiones generalizadas, caracterizadas por espigas repetitivas agudas de elevada amplitud en el EEG que aparecen repentinamente en los primeros 2 min después de la inyección del PTZ . Este cambio dramático en la actividad cortical que induce el PTZ en los animales anestesiados durante las convulsiones es seguido por un patrón típico de actividad cortical caracterizado por salvas de espigas rítmicas de alta amplitud. El tiempo de duración de este patrón típico de actividad cortical que no se acompaña de convulsiones se denomina periodo post-ictal.

La vinpocetina inhibe completamente la aparición de la actividad cortical que induce el PTZ durante los periodos ictal y post-ictal. En los trazos superiores de las figuras 15 y 16 se muestran registros característicos del EEG en condiciones control (i.e. antes de la inyección del PTZ). Los cambios dramáticos en el EEG que induce el PTZ aproximadamente después de 2 min en los animales pre-inyectados con vehículo, no se producen cuando se inyecta el PTZ en los animales que fueron pre-inyectados con vinpocetina (ver Fig. 15). Asimismo, los cambios que produce el PTZ a los 10, 20 , 30 y 50 minutos después de su inyección (Fig. 16a) no se producen en los animales pre-inyectados con vinpocetina (Fig. 16b).



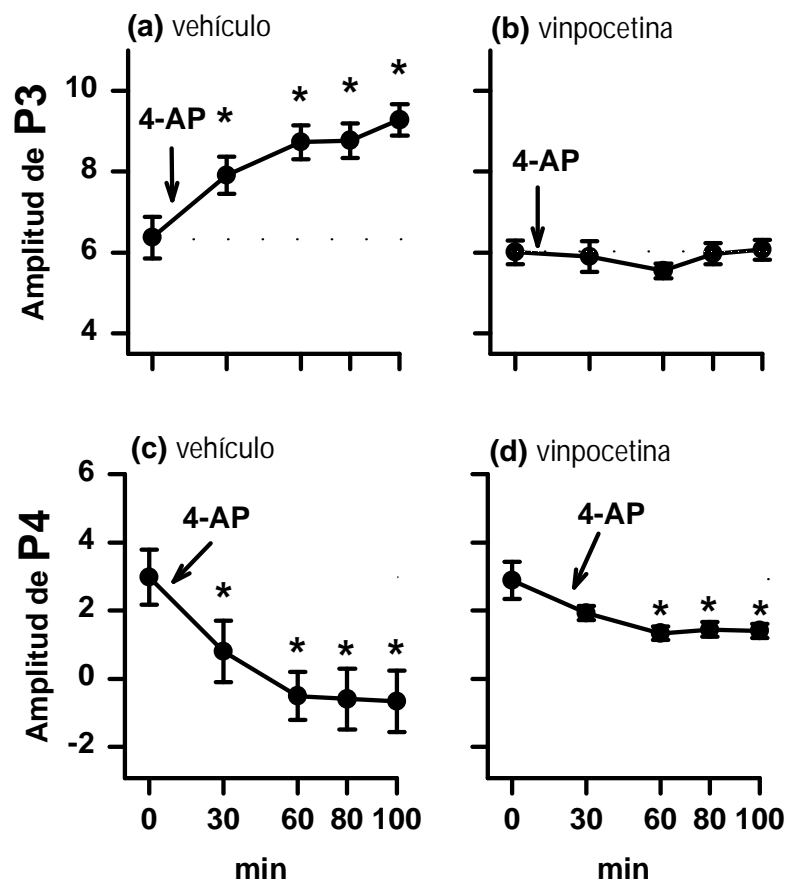
**Figura 15 . La vinpocetina inhibe los cambios en el electroencefalograma que induce el PTZ durante el periodo ictal.** *Los registros de EEG que se muestran, se tomaron en un animal representativo antes (trazo superior) y aproximadamente 2 min después de la inyección del PTZ en el animal pre-inyectado con vehículo 4 horas antes del PTZ (trazo en el centro) o pre-inyectado con vinpocetina 4 horas antes del PTZ (trazo de abajo).*



**Figura 16. La vinpocetina inhibe los cambios en el EEG que induce el PTZ durante el periodo post-ictal.** *Los registros de EEG que se muestran en (a), se tomaron en un animal representativo pre-inyectado con vehículo antes (trazo superior) y 10, 20, 30 y 50 min después de la inyección del PTZ. Los registros de EEG que se muestran en (b), se tomaron en un animal representativo pre-inyectado con vinpocetina antes (trazo superior) y 10, 20, 30 y 50 min después de la inyección del PTZ.*

### 3. Efecto de la vinpocetina sobre los cambios en los PAETC y el EEG que induce la 4-AP.

La vinpocetina también inhibe los cambios en la amplitud de las ondas P3 y P4 que produce la 4-AP. Por ejemplo, el aumento progresivo en la amplitud



**Figura 17.** La vinpocetina inhibe las alteraciones en la amplitud de las ondas tardías del PAETC que induce la 4-AP. Los PAETC fueron inducidas por un estímulo de 100 dB a 8 kHz. La figura muestra que el aumento progresivo en la amplitud de la onda P3 de los PAETC que se observa después de la inyección de 4-AP en los animales control (a), se elimina en los animales tratados con vinpocetina (b). La marcada disminución en la amplitud de la onda P4 de los PAETC que se observa en los animales control después de la inyección de 4-AP (c) se reduce considerablemente en los animales que recibieron vinpocetina (d).

de la onda P3 que produce la 4-AP en los animales control (Fig. 17 a) se elimina en los animales tratados con vinpocetina (Fig. 17 b) y la disminución en la amplitud de la onda P4 que produce la 4-AP en los animales control (Fig. 17 c) se reduce notoriamente en los animales tratados con vinpocetina (Fig. 17 d).

En la tabla 6 se muestra que los aumentos en la latencia de la onda

**Tabla 6. La vinpocetina inhibe el aumento en la latencia de la onda P4 de los PAETC inducido por 4-AP**

	<b>8 kHz 4-AP</b>	<b>8 kHz Vinpocetina + 4-AP</b>
<i>Antes</i>	$3.48 \pm 0.06$	$3.48 \pm 0.04$
<i>30 min</i>	$3.51 \pm 0.13$	$3.55 \pm 0.07$
<i>60 min</i>	$3.80 \pm 0.10^*$	$3.45 \pm 0.08$
<i>80 min</i>	$3.80 \pm 0.10^*$	$3.36 \pm 0.05$
<i>100 min</i>	$3.83 \pm 0.12^*$	$3.35 \pm 0.07$
	<b>4 kHz 4-AP</b>	<b>4 kHz Vinpocetina + 4-AP</b>
<i>Antes</i>	$3.50 \pm 0.02$	$3.45 \pm 0.06$
<i>30 min</i>	$3.78 \pm 0.09^*$	$3.37 \pm 0.06$
<i>60 min</i>	$3.78 \pm 0.09^*$	$3.54 \pm 0.11$
<i>80 min</i>	$3.78 \pm 0.09^*$	$3.56 \pm 0.04$
<i>100 min</i>	$3.75 \pm 0.10^*$	$3.43 \pm 0.09$

P4 de los PAETC inducidos por el estímulo de 100 dB a las frecuencias de 8 y 4 kHz que se observan a los tiempos indicados después de la inyección de 4-AP en los animales control (columnas a la izquierda), no se producen cuando la 4-AP se inyecta en los animales pre-tratados con vinpocetina (columnas a la derecha).

En la tabla 7 se muestra que el aumento en el umbral auditivo que induce la 4-AP a las frecuencias de 8 y 4 kHz en los animales control (columnas a la izquierda), no se produce en los animales tratados con vinpocetina (columnas a la derecha) .

**Tabla 7. La vinpocetina inhibe la pérdida del oído que Induce la 4-AP en el periodo post-ictal**

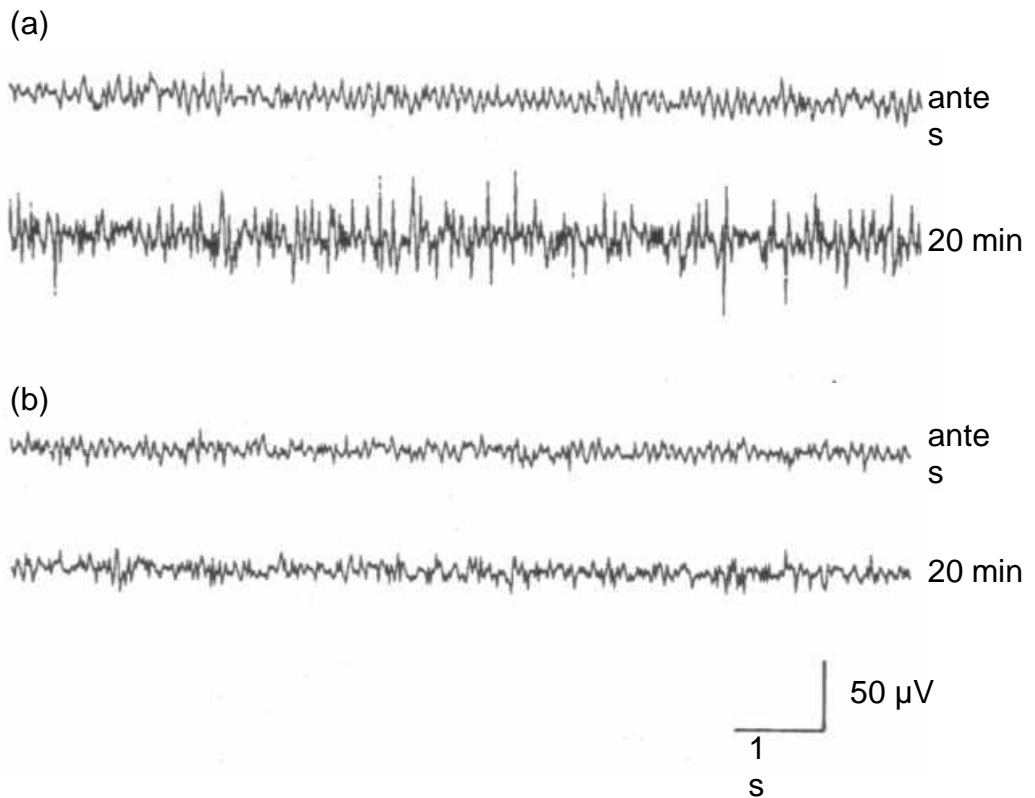
	4-AP	Vinpocetina + 4-AP
<b>8 kHz</b>		
Antes	$3.8 \pm 1.3$	$2.5 \pm 1.4$
30 min	$10.0 \pm 2.0$ *	$-1.3 \pm 2.4$
60 min	$23.8 \pm 6.3$ *	$0.0 \pm 3.5$
<b>4 kHz</b>		
Antes	$13.8 \pm 1.3$	$13.8 \pm 1.3$
30 min	$20 \pm 2.0$ *	$11.3 \pm 1.3$
60 min	$30 \pm 3.5$ *	$11.3 \pm 1.3$



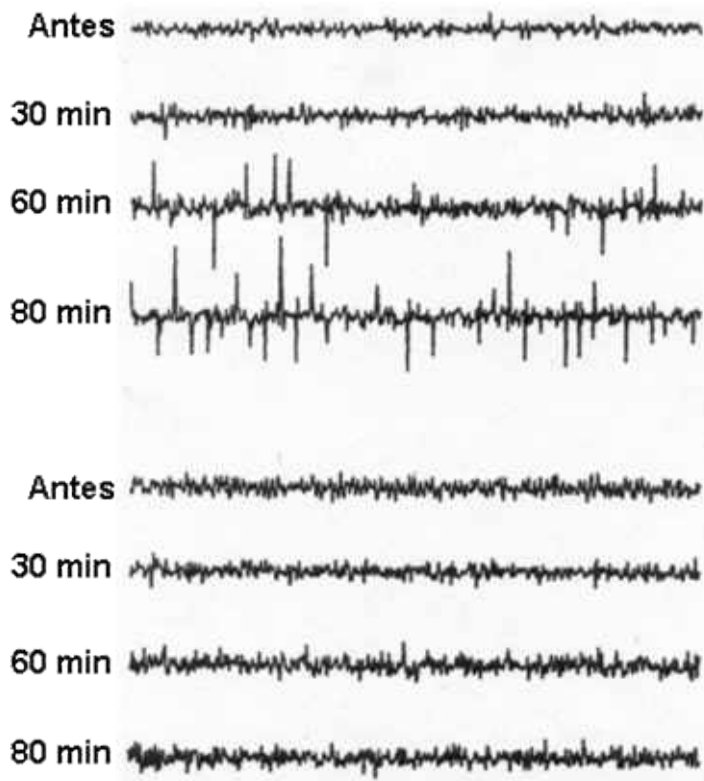
La vinpocetina inhibe todos los cambios que induce la 4-AP en el EEG. Todos los animales inyectados con 4-AP desarrollaron convulsiones generalizadas, caracterizadas por espigas repetitivas agudas de elevada amplitud en el EEG que aparecen aproximadamente 20 min después de la inyección de la 4-AP. Este cambio en la actividad cortical que induce la 4-AP durante el periodo ictal es seguido por el periodo post-ictal caracterizado por espigas aisladas de alta amplitud que aparecen en el EEG aproximadamente una hora después de la inyección de la 4-AP. La vinpocetina inhibe completamente la aparición de la actividad cortical que induce la 4-AP durante los periodos ictal y post-ictal.

En los trazos superiores de la figura 18 se muestran los registros control del EEG tomados antes de inyectar la 4-AP en los animales pre-inyectados con vehículo (a) y en los animales pre-inyectados con vinpocetina (b). Los cambios que induce la 4-AP sobre el EEG durante el periodo ictal se muestran en el segundo trazo de la figura 18a. En los animales tratados con vinpocetina la 4-AP es incapaz de inducir la actividad ictal (segundo trazo en la Fig. 18b).

En la figura 19a se muestra la actividad post-ictal que induce la 4-AP, misma que también se pierde cuando el agente convulsivo, 4-AP, se inyecta en los animales pre-tratados con vinpocetina (Fig. 19b).



**Figura 18. La vinpocetina inhibe los cambios en el EEG que induce la 4-AP durante el periodo ictal.** *Los registros de EEG que se muestran en (a) se tomaron en un animal representativo antes y aproximadamente 20 min después de la inyección de la 4-AP en el animal pre-inyectado con vehículo. Los registros de EEG que se muestran en (b) se tomaron en un animal representativo antes y aproximadamente 20 min después de la inyección de la 4-AP en el animal pre-inyectado con 2mg/kg de vinpocetina.*



**Figura 19. La vinpocetina inhibe los cambios en el EEG que induce la 4-AP durante el periodo post-ictal.** *Los registros de EEG que se muestran en (a) se tomaron en un animal representativo pre-inyectado con vehículo antes (trazo superior) y 30, 60 y 80 min después de la inyección de la 4-AP. Los registros de EEG que se muestran en (b) se tomaron en un animal representativo pre-inyectado con vinpocetina antes (trazo superior) y 30, 60 y 80 min después de la inyección de la 4-AP.*

## 8. DISCUSION GENERAL

En el presente trabajo fueron investigados los efectos de dos convulsivantes químicos, PTZ y 4-AP, administrados a dosis que inducen convulsiones generalizadas severas, sobre la sensibilidad auditiva (determinada por el umbral auditivo de los PAETC) y sobre la amplitud y la latencia de las ondas de los PAETC evocados con un estímulo de alta intensidad (100 dB) en los cobayos.

Todos los registros obtenidos en este trabajo fueron realizados en cobayos anestesiados con una mezcla de ketamina y xilazina por vía intramuscular. En los cobayos, la amplitud máxima del EEG se redujo ligeramente una hora después de la anestesia (Fig. 10). Estos datos confirman los datos reportados anteriormente en ratas anestesiadas por Goss-Sampson y Kriss (1991). Sin embargo, este ligero efecto de la anestesia sobre el EEG es irrelevante, ya que la anestesia no produce cambios en la amplitud y la latencia de las ondas de los PAETC evocados con el estímulo de alta intensidad (100 dB) o cambios en el umbral auditivo de los PAETC durante el tiempo de duración de los experimentos.

En el presente trabajo se demuestra que los agentes convulsivantes aumentan marcadamente el umbral auditivo de los PAETC y alteran los parámetros de algunas ondas de los PAETC en respuesta al estímulo de alta intensidad. Por ejemplo, el PTZ disminuyó la amplitud de la onda P4 y

aumentó la latencia de las ondas P2, P3 y P4; mientras que la 4-AP aumentó la amplitud de la onda P3, disminuyó la amplitud de la onda P4 y aumentó su latencia. Estos hallazgos demuestran que aunque el PTZ y la 4-AP difieren en sus mecanismos de acción moleculares (Macdonald y Barker 1977; Morales-Villagrán y Tapia 1996), la actividad epiléptica cortical inducida por ambos agentes convulsivantes se ve acompañada por una marcada reducción en la sensibilidad auditiva, que a su vez parece estar ligada a las alteraciones en las ondas de los PAETC de origen retrococlear. El análisis de los parámetros de las diferentes ondas de los PAETC en respuesta al estímulo de alta intensidad reveló que el aumento del umbral auditivo producido por ambos agentes convulsivantes se acompaña por una disminución en la amplitud y un aumento en la latencia de la onda P4, que es la onda que se genera en el núcleo lateral del COS, así como por algunos cambios en la onda P3, que se genera en el núcleo medial del COS, lo que sugiere que dichos cambios retrococleares están ligados con la reducción en la sensibilidad auditiva.

Entre los núcleos del COS el núcleo lateral es el sitio primario de la interacción binaural en el sistema auditivo ascendente (Wada y Starr 1983a,b,c; Ungan y Yagcioglu 2002), porque recibe inervación excitadora ipsilateral e inervación inhibitoria contralateral (Helfert y col. 1989; Suneja y col. 1998; Sanes y Friauf 2000). En el presente trabajo los animales se estimularon monoauralmente. La estimulación monoaural utilizada hizo posible poder desenmascarar por primera vez la conexión entre las

alteraciones de la onda P4 y el aumento en el umbral auditivo que se presentan en ambos modelos de epilepsia experimental.

El hecho de que el aumento en el umbral auditivo inducido por los dos agentes convulsivantes utilizados en la presente investigación no se vea acompañado por cambios en la latencia o en la amplitud de la onda P1 de los PAETC indica que la pérdida del oído inducida por el PTZ o por la 4-AP no involucra a las células pilosas de la cóclea.

Los cambios en los parámetros de algunas ondas de los PAETC o en los umbrales auditivos reportados en pacientes epilépticos han sido atribuidos a los fármacos antiepilépticos (Japaridze y col. 1993; de la Cruz y Bance 1999). Sin embargo, los cambios en las ondas tardías de los PAETC evocados por el estímulo de alta intensidad y el aumento en el umbral auditivo inducidos por el PTZ o la 4-AP en animales nunca tratados con fármacos antiepilépticos que se muestran en la presente investigación indican que la epilepsia por sí misma también puede reducir la sensibilidad auditiva alterando la actividad de los generadores de las ondas tardías de los PAETC.

La posibilidad de que la conexión entre los cambios en la latencia y/o la amplitud de las ondas de los PAETC generadas en el COS y la elevación de los umbrales de los PAETC demostrada aquí en el modelo animal, no se haya podido desenmascarar en los pacientes epilépticos puede deberse a que sólo en el modelo animal es posible evitar la medicación con diferentes

fármacos antiepilépticos y controlar las diferencias en la sensibilidad auditiva individual antes y después de la presentación de las crisis epilépticas.

Considerando estos resultados, es posible especular que en pacientes epilépticos con alta cronicidad, la frecuencia de las alteraciones en los núcleos del COS que acompañan a las crisis epilépticas lleguen a convertirse en un factor permanente, capaz de reducir la audición hasta un nivel clínicamente perceptible.

La comparación de los registros del EEG con los registros de los PAETC durante el periodo post-ictal también reveló un paralelismo entre la severidad de los cambios inducidos por los agentes convulsivantes en actividad cortical y en las ondas de los PAETC generadas en los núcleos del COS. Este paralelismo es consistente con un papel de núcleos específicos del COS en la epilepsia generalizada y fue sugerido previamente con base de fluctuaciones bifásicas de la amplitud de la onda P3 que ocurren antes de la aparición de las descargas paroxismales en el EEG de los pacientes epilépticos (Kohsaka y col. 1999; Kohsaka y col. 2001). Además, este paralelismo es consistente con un estudio neuropatológico que demostró atrofia de los núcleos principales del COS en pacientes que padecieron convulsiones generalizadas durante su vida (Fisman 1975).

En la segunda y tercera serie de resultados presentados en esta tesis se demuestra que la vinpocetina bloquea el desarrollo de las convulsiones e inhibe la actividad epiléptica cortical inducida por dos agentes convulsivantes durante los periodos ictal y post-ictal. Además de esta acción anti-

convulsivante, demostramos que la vinpocetina inhibe la pérdida del oído y las alteraciones de amplitud y latencia de las ondas de los PAETC inducidos por el PTZ y la 4-AP.

No obstante el efecto positivo que ejercen las drogas antiepilépticas disponibles sobre el control de las convulsiones, dichas drogas también causan varios efectos adversos (Vermeulen y Aldenkamp 1995; Gates 2000; Brunbech y Sabers 2002; Schmidt 2002), como se mencionó anteriormente. Uno de los principales efectos adversos de las drogas antiepilépticas es el deterioro de las funciones cognitivas y conductuales, particularmente la memoria (Gates 2000; Kwan y Brodie 2001; Brunbech y Sabers 2002; Schmidt 2002). Además, las drogas antiepilépticas, incluyendo a la carbamazepina, valproato, fenitoína, fenobarbital, clonazepam y vigabatrina, también causan deficiencias en la audición y alteraciones en las ondas de los PAETC (Mervaala y col. 1987; Hirose y col. 1990; Yuksel y col. 1995; de la Cruz y Bance 1999; Zgorzalewicz y Galas-Zgorzalewicz 2000).

El hecho de que la vinpocetina además de cancelar completamente la actividad epiléptica cortical inducida por el PTZ y la 4-AP durante los periodos ictal y post-ictal, también cancele las alteraciones en los parámetros de las ondas tardías de los PAETC y el aumento del umbral auditivo que inducen ambos convulsivantes indica que la capacidad antiepiléptica de la vinpocetina tiene ventajas sobre la mayoría de los fármacos antiepilépticos disponibles.



Además, la vinpocetina ha demostrado mejorar las funciones cognitivas, particularmente la memoria, en ratas (De Noble 1986, 1987) y en humanos (Subhan y Hindmarch 1985; Bhatti y Hindmarch 1987) y también impide el desarrollo de la pérdida del oído, como demuestran los resultados de este trabajo.

Es posible que la cancelación que produce la vinpocetina sobre las anomalías retrococleares inducidas por los dos agentes convulsivantes contribuya a su acción anticonvulsivante, pues en estudios previos se ha demostrado que los cambios en estructuras auditivas de los núcleos de oliva superior acompañan (Fisman 1975) e incluso preceden (Kohsaka y col. 1999; Kohsaka y col. 2001) a la actividad epiléptica en pacientes.

## 9. CONCLUSIONES

1. La epilepsia reproducida en modelos farmacológicos, tales como el PTZ y la 4AP, induce pérdida del oído.
2. Estos modelos de epilepsia aumentan la latencia y disminuyen la amplitud de la onda P4 de los PAETC, generada en el núcleo lateral del complejo olivar superior.
3. Las alteraciones de la onda P4 de los PAETC, en ambos modelos de epilepsia, deben estar relacionadas con el aumento de la inhibición contralateral de la actividad del núcleo lateral del complejo olivar superior.
4. La vinpocetina posee propiedades antiepilépticas, previene las convulsiones e inhibe la actividad paroxismal cortical durante los periodos ictal y post-ictal.
5. La vinpocetina es capaz de antagonizar las alteraciones de origen retrococlear y la pérdida del oído que induce la epilepsia experimental, lo que la convierte en un fármaco alternativo para el tratamiento de la epilepsia.

## 10. BIBLIOGRAFIA

Bhatti J. Z. and Hindmarch I. (1987) Vinpocetine effects on cognitive impairments produced by flunitrazepam. *Int Clin Psychopharmacol* **2**, 325-331.

Bönöczk P., Gulyas B., Adam-Vizi V., Nemes A., Karpati E., Kiss B., Kapas M., Szantay C., Koncz I., Zelles T., and Vas A. (2000) Role of sodium channel inhibition in neuroprotection: effect of vinpocetine. *Brain Res Bull* **53**, 245-254.

Bradford H. F. (1995) Glutamate, GABA and epilepsy. *Prog Neurobiol* **47**, 477-511.

Brodie M. J. (2001) Do we need any more new antiepileptic drugs. *Epilepsy Res* **45**, 3-6.

Brunbech L. and Sabers A. (2002) Effect of antiepileptic drugs on cognitive function in individuals with epilepsy: a comparative review of newer versus older agents. *Drugs* **62**, 593-604.

Cant N. B. (1992) The cochlear nucleus: neuronal types and their synaptic organization, in *The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy*. (Webster D. B., Popper A. N., and Fay R. R., eds.), pp. 66-116. Springer-Verlag, New York.

Chen H. H. and Lee Y. F. (2002) Neonatal toluene exposure selectively alters sensitivity to different chemoconvulsant drugs in juvenile rats. *Pharmacol Biochem Behav* **73**, 921-927.

Cockerell O. C., Johnson A. L., Sander J. W., Hart Y. M., and Shorvon S. D. (1995) Remission of epilepsy: results from the National General Practice Study of Epilepsy. *Lancet* **346**, 140-144.

de la Cruz M. and Bance M. (1999) Carbamazepine-induced sensorineural hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **125**, 225-227.

DeNoble V. J. (1987) Vinpocetine enhances retrieval of a step-through passive avoidance response in rats. *Pharmacol Biochem Behav* **26**, 183-186.

DeNoble V. J., Repetti S. J., Gelpke L. W., Wood L. M., and Keim K. L. (1986) Vinpocetine: nootropic effects on scopolamine-induced and hypoxia-induced retrieval deficits of a step-through passive avoidance response in rats. *Pharmacol Biochem Behav* **24**, 1123-1128.

Eden D., Ford R. P., Hunter M. F., Malpas T. J., Darlow B., and Gourley J. (2000) Audiological screening of neonatal intensive care unit graduates at high risk of sensorineural hearing loss. *N Z Med J* **113**, 182-183.

El-Kashlan H. K., Eisenmann D., and Kileny P. R. (2000) Auditory brainstem response in small acoustic neuromas. *Ear Hear* **21**, 257-262.

Facco E., Behr A. U., Munari M., Baratto F., Volpin S. M., Gallo F., Lanzillotta M. A., and Giron G. P. (1998) Auditory and somatosensory evoked potentials in coma following spontaneous cerebral hemorrhage: early prognosis and outcome. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **107**, 332-338.

Facco E., Munari M., Gallo F., Volpin S. M., Behr A. U., Baratto F., and Giron G. P. (2002) Role of short latency evoked potentials in the diagnosis of brain death. *Clin Neurophysiol* **113**, 1855-1866.

Ferraro J. A. (1997) *Laboratory exercises in auditory evoked potentials*, Singular Publishing Group, Inc, San Diego.

Fisher R. S. (1989) Animal models of the epilepsies. *Brain Res Rev* **14**, 245-278.

Fisman M. (1975) Superior olivary complex in psychotic patients. *Psychological Medicine* **5**, 147-151.

Fragoso-Veloz J. and Tapia R. (1992) NMDA receptor antagonists protect against seizures and wet-dog shakes induced by 4-aminopyridine. *Europ J Pharmacol* **221**, 275-280.

García Pedroza F. (1997) La epilepsia como problema de salud pública, in *Epilepsia* (Feria Velasco A., Martínez de Muñoz D., and Rubio Donnadiou F., eds.), pp. 402-414. Cognos editiores S.A. de C.V., México, D.F.

Gates J. R. (2000) Side effect profiles and behavioral consequences of antiepileptic medications. *Epilepsy and Behavior* **1**, 153-159.

Godey B., Morandi X., Beust L., Brassier G., and Bourdinier J. (1998) Sensitivity of auditory brainstem response in acoustic neuroma screening. *Acta Otolaryngol* **118**, 501-504.

González Astiazarán A. (1997) Síndromes epilépticos en edad pediátrica, in *Epilepsia* (Feria Velasco A., Martínez de Muñoz D., and Rubio Donnadiou F., eds.), pp. 214-229. Cognos editores S.A. de C.V., México,D.F.

Goode R. L. (2001) Auditory physiology of the external ear, in *Physiology of the ear* (Jahn A. F. and Santos-Sacchi J., eds.), pp. 147-160. Singular Publishing, New York.

Goss-Sampson M. A. and Kriss A. (1991) Effects of pentobarbital and ketamine-xylazine anaesthesia on somatosensory, brainstem auditory and peripheral sensory-motor responses in the rat. *Lab Anim* **25**, 360-366.

Hall J. W. (1992) *Handbook of auditory evoked responses*, Allyn and Bacon, Massachusetts.

Hashimoto I., Ishiyama Y., Yoshimoto T., and Nemoto S. (1981) Brain-stem auditory-evoked potentials recorded directly from human brain-stem and thalamus. *Brain* **104**, 841-859.

Hatayama T. and Moller A. (1998) Correlation between latency and amplitude of peak V in the brainstem auditory evoked potentials: intraoperative recordings in microvascular decompression operations. *Acta Neurochir* **140**, 681-687.

Haupt W. F. and Rudolf J. (1999) European brain death codes: a comparison of national guidelines. *J Neurol* **246**, 432-437.

Helfert R. H., Bonneau J. M., Wenthold R. J., and Altschuler R. A. (1989) GABA and glycine immunoreactivity in the guinea pig superior olivary complex. *Brain Res* **501**, 269-286.

Hindmarch I., Fuchs H. H., and Erzigkeit H. (1991) Efficacy and tolerance of vinpocetine in ambulant patients suffering from mild to moderate organic psychosyndromes. *Int Clin Psychopharmacol* **6**, 31-43.

Hirose G., Chujo T., Kataoka S., Kawada J., and Yoshioka A. (1990) Acute effects of anticonvulsants on brain-stem auditory evoked potentials in rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **75**, 543-547.

Huang C. M. (1980) A comparative study of the brain stem auditory response in mammals. *Brain Res* **184**, 215-219.

Huang R. Q., Bell-Horner C. L., Dibas M. I., Covey D. F., Drewe J. A., and Dillon G. H. (2001) Pentylentetrazole-induced inhibition of recombinant gamma-aminobutyric acid type A (GABA(A)) receptors: mechanism and site of action. *J Pharmacol Exp Ther* **298**, 986-995.



Japaridze G., Kvernadze D., Geladze T., and Kevanishvili Z. (1993) Effects of carbamazepine on auditory brainstem response, middle-latency response, and slow cortical potential in epileptic patients. *Epilepsia* **34**, 1105-1109.

Jewett D. L. (1970) Volume-conducted potentials in response to auditory stimuli as detected by averaging in the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **28**, 609-618.

Jewett D. L., Romano M. N., and Williston J. S. (1970) Human auditory evoked potentials: possible brain-stem components detected on the scalp. *Science* **167**, 1517-1518.

Jokeit H. and Ebner A. (1999) Long term effects of refractory temporal lobe epilepsy on cognitive abilities: a cross sectional study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **67**, 44-50.

King G. A. (1987) Protective effects of vinpocetine and structurally related drugs on the lethal consequences of hypoxia in mice. *Arch Int Pharmacodyn Ther* **286**, 299-307.

Kohsaka S., Kohsaka M., Mizukami S., Sakai T., and Kobayashi K. (2001) Brainstem activates paroxysmal discharge in human generalized epilepsy. *Brain Res* **903**, 53-61.

Kohsaka S., Mizukami S., Uetake K., Sakai T., and Kohsaka M. (1999) Brainstem triggers absence seizures in human generalized epilepsy. *Brain Res* **837**, 277-288.

Kwan P. and Brodie M. J. (2001) Neuropsychological effects of epilepsy and antiepileptic drugs. *Lancet* **357**, 216-222.

Lang J. (1981) . Facial and vestibulocochlear nerve, topographic anatomy and variations., in *The cranial nerves* (Samii M. and Jannetta P. J., eds.), pp. 363-377. Springer, Berlin.

Legatt A. D. (2002) Mechanisms of intraoperative brainstem auditory evoked potential changes. *J Clin Neurophysiol* **19**, 408.

Lopez J. R., Chang S. D., and Steinberg G. K. (1999) The use of electrophysiological monitoring in the intraoperative management of intracranial aneurysms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **66**, 196.

Loscher W. (1998) New visions in the pharmacology of anticonvulsion. *Europ J Pharmacol* **342**, 1-13.

Loscher W. (2002) Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the

pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* **50**, 105-123.

Loscher W., Honack D., Fassbender C. P., and Nolting B. (1991) The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylentetrazole seizure models. *Epilepsy Res* **8**, 171-189.

Loscher W. and Schmidt D. (1988) Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res* **2**, 145-181.

Macdonald R. L. and Barker J. L. (1977) Pentylentetrazol and penicillin are selective antagonists of GABA-mediated post-synaptic inhibition in cultured mammalian neurones. *Nature* **267**, 720-721.

Malhotra A. (1997) *Auditory evoked responses in clinical practice*, Springer-Verlag, New York.

Mason S., Davis A., Wood S., and Farnsworth A. (1998) Field sensitivity of targeted neonatal hearing screening using the Nottingham ABR Screener. *Ear Hear* **19**, 102.

Meador K. J. (2001) Can we treat cognitive deficits in patients with epilepsy? *Epilepsy Behav* **2**, 307-308.

Meldrum B. (2002) Do preclinical seizure models preselect certain adverse effects of antiepileptic drugs. *Epilepsy Res* **50**, 33-40.

Mervaala E., Keränen T., Tihonen P., and Riekkinen P. (1987) The effects of carbamazepine and sodium valproate on SEPs and BAEPs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **68**, 475-478.

Moller A. R. (2000) *Hearing: its physiology and pathophysiology*, Academic Press, San Diego.

Moller A. R. and Burgess J. (1986) Neural generators of the brain-stem auditory evoked potentials (BAEPs) in the rhesus monkey. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **65**, 361-372.

Moller A. R. and Jannetta P. J. (1982) Auditory evoked potentials recorded intracranially from the brain stem in man. *Exp Neurol* **78**, 144-157.

Moller A. R. and Jannetta P. J. (1983) Auditory evoked potentials recorded from the cochlear nucleus and its vicinity in man. *J Neurosurg* **59**, 1013-1018.

Moller A. R., Jannetta P. J., and Sekhar L. N. (1988) Contributions from the auditory nerve to the brain-stem auditory evoked potentials (BAEPs): results of intracranial recording in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **71**, 198-211.

Morales-Villagran A., López-Pérez S., Medina-Ceja L., and Tapia R. (1999) Cortical catecholamine changes and seizures induced by 4-aminopyridine in awake rats, studied with a dual microdialysis-electrical recording technique. *Neurosci Lett* **275**, 133-136.

Nekrassov V. and Sitges M. (2000) Vinpocetine protects from aminoglycoside antibiotic-induced hearing loss in guinea pig in vivo. *Brain Res* **868**, 222-229.

Noebels J. (1996) Targeting epilepsy genes. *Neuron* **16**, 241-244.

Obrenovitch T. P. and Urenjak J. (1997) Altered glutamatergic transmission in neurological disorders: from high extracellular glutamate to excessive synaptic efficacy. *Prog Neurobiol* **51**, 39-87.

Oliver D. L. and Huerta M. F. (1992) Inferior and superior colliculi, in *The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy* (Webster D. B., Popper A. N., and Fay R. R., eds.), pp. 168-221. Springer Verlag, New York.

Peña F. and Tapia R. (2000) Seizures and neurodegeneration induced by 4-aminopyridine in rat hippocampus in vivo: role of glutamate- and GABA-mediated neurotransmission and of ion channels. *Neuroscience* **101**, 547-561.

Perucca E., Beghi E., Dulac O., Shorvon S., and Tomsom T. (2000) Assessing risk to benefit ratio in antiepileptic drug therapy. *Epilepsy Res* **41**, 107-139.

Pranzatelli M. R. and Nadi S. (1995) Mechanisms of action of antiepileptic and antimyoclonic drugs, in *Negative Motor Phenomena* (Fahn S., Hallett M., Luders H. O., and Marsden C. D., eds.), pp. 329-360. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Pratt H., Polyakov A., Aharonson V., Korczyn A. D., Tadmor R., Fullerton B. C., and Levine R. A. (1998) Effects of localized pontine lesions on auditory brain-stem evoked potentials and binaural processing in humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **108**, 511-520.

Prevey M. L., Delaney R. C., Cramer J. A., and Mattson R. H. (1998) Complex partial and secondarily generalized seizure patients: cognitive functioning prior to treatment with antiepileptic medication. VA Epilepsy Cooperative Study 264 Group. *Epilepsy Res* **30**, 1-9.

Raber E., Dort J. C., Sevick R., and Winkelaar R. (1997) Asymmetric hearing loss: toward cost-effective diagnosis. *J Otolaryngol* **26**, 88-91.

Ragsdale D. S. and Avoli M. (1998) Sodium channels as molecular targets for antiepileptic drugs. *Brain Res Rev* **26**, 16-28.

Rosowski J. J. (2001) Introduction to the analysis of middle-ear function, in *Physiology of the ear* (Jahn A. F. and Santos-Scchi J., eds.), pp. 161-190. Singular Publishing, New York.

Rubio Donnadiou F. (1997) Aspectos generales y clasificación de la epilepsia, in *Epilepsia* (Feria Velasco A., Martínez de Muñoz D., and Rubio Donnadiou F., eds.), pp. 1-24. Cognos Editores S.A. de C.V., México, D.F.

Sanes D. H. and Friauf E. (2000) Development and influence of inhibition in the lateral superior olivary nucleus. *Hear Res* **147**, 46-58.

Santi P. A. and Tsuprun V. L. (2001) Cochlear microanatomy and ultrastructure, in *Physiology of the ear* (Jahn A. F. and Santos-Sacchi J., eds.), pp. 257-284. Singular Publishing, New York.

Sarkisian M. R. (2001) Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders. *Epilepsy Behav* **2**, 201-216.

Sauer D., Rischke R., Beck T., Rozberg C., Mennel H. D., Bielenberg G. W., and Krieglstein J. (1988) Vinpocetine prevents ischemic cell damage in rat hippocampus. *Life Sciences* **43**, 1733-1739.

Scheuer M. L. and Pedley T. A. (1990) The evaluation and treatment of seizures. *N Engl J Med* **323**, 1468-1474.

Schmidt D. (2002) The clinical impact of new antiepileptic drugs after a decade of use in epilepsy. *Epilepsy Res* **50**, 21-32.

Schwartz I. R. (1992) The superior olivary complex and lateral lemniscal nuclei, in *The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy* (Webster D. B., Popper A. N., and Fay R. R., eds.), pp. 117-167. Springer Verlag, New York.

Sekiya T., Shimamura N., Yagihashi A., and Suzuki S. (2002) Axonal injury in auditory nerve observed in reversible latency changes of brainstem auditory



evoked potentials (BAEP) during cerebellopontine angle manipulations in rats. *Hear Res* **173**, 91-99.

Shih C. L., Chen H. H., and Chiu T. H. (2001) Acute exposure to trichloroethylene differentially alters the susceptibility to chemoconvulsants in mice. *Toxicology* **162**, 35-42.

Sitges M. and Nekrassov V. (1999) Vinpocetine selectively inhibits neurotransmitter release triggered by sodium channel activation. *Neurochem Res* **24**, 1585-1591.

Sitges M., Nekrassov V., and Guarneros A. (2000) Simultaneous action of MK-801 (dizclopine) on dopamine, glutamate, aspartate and GABA release from striatum isolated nerve endings. *Brain Res* **854**, 48-56.

Soliman S., Mostafa M., Kamal N., Raafat M., and Hazzaa N. (1993) Auditory evoked potentials in epileptic patients. *Ear Hear* **14**, 235-241.

Subhan Z. and Hindmarch I. (1985) Psychopharmacological effects of vinpocetine in normal healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* **28**, 567-571.

Suneja S. K., Benson C. G., Gross J., and Potashner S. J. (1995a) Evidence for glutamatergic projections from the cochlear nucleus to the superior olive and the ventral nucleus of the lateral lemniscus. *J Neurochem* **64**, 161-171.

Suneja S. K., Benson C. G., Gross J., and Potashner S. J. (1995b) Uptake and release of d-aspartate, GABA, and glycine in guinea pig brainstem auditory nuclei. *J Neurochem* **64**, 147-160.

Suneja S. K., Benson, C. G., and Potashner, S. J. (1998) Glycine receptors in adult guinea pig brain stem auditory nuclei: regulation after unilateral cochlear ablation. *Experimental Neurology* **154**, 473-488.

Theodore W. H., Hatta B. S., Fazilat S., DeCarli C., Bookheimer S. Y., and Gaillard W. D. (1999) Hippocampal atrophy, epilepsy duration and febrile seizures in patients with partial seizures. *Neurology* **52**, 132-136.

Tollin D. J. and Yin T. C. (2002) The coding of spatial location by single units in the lateral superior olive of the cat. I. Spatial receptive fields in azimuth. *J Neurosci* **22**, 1454-1467.

Trejo F., Nekrassov V., and Sitges M. (2001) Characterization of vinpocetine effects on DA and DOPAC release in striatal isolated nerve endings. *Brain Res* **909**, 59-67.

Ungan P. and Yagcioglu S. (2002) Origin of the binaural interaction component in wave P4 of the short-latency auditory evoked potentials in the cat: evaluation of serial depth recordings from the brainstem. *Hear Res* **167**, 81-101.

Vermeulen J. and Aldenkamp A. P. (1995) Cognitive side-effects of chronic antiepileptic drug treatment: a review of 25 years of research. *Epilepsy Res* **22**, 65-95.

Wada S. I. and Starr A. (1983a) Generation of auditory brain stem responses (ABRs). I. Effects of injection of a local anesthetic (procaine HCl) into the trapezoid body of guinea pigs and cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **56**, 326-339.

Wada S. I. and Starr A. (1983b) Generation of auditory brain stem responses (ABRs). II. Effects of surgical section of the trapezoid body on the ABR in guinea pigs and cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **56**, 340-351.

Wada S. I. and Starr A. (1983c) Generation of auditory brain stem responses (ABRs). III. Effects of lesions of the superior olive, lateral lemniscus and inferior colliculus on the ABR in guinea pig. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **56**, 352-366.

White H. S. (1998) Chemoconvulsants, in *Neuropharmacology methods in epilepsy research* (Peterson S. L. and Albertson T. E., eds.), pp. 27-40. CRC Press.

White H. S. (2003) Preclinical development of antiepileptic drugs: past, present, and future directions. *Epilepsia* **44**, 2-8.

Winer J. A. (1992) The functional architecture of the medial geniculate body and the primary auditory cortex, in *The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy* (Webster D. B., Popper A. N., and Fay R. R., eds.), pp. 222-409. Springer Verlag, New York.

Yin T. C. and Chan J. C. (1990) Interaural time sensitivity in medial superior olive of cat. *J Neurophysiol* **64**, 465-488.

Yuksel A., Senocak D., Sozuer D., Keskin G., Dirican A., Cenani A., and Yalcin E. (1995) Effects of carbamazepine and valproate on brainstem auditory evoked potentials in epileptic children. *Childs Nerv Syst* **11**, 474-477.

Zgorzalewicz M. and Galas-Zgorzalewicz B. (2000) Visual and auditory evoked potentials during long-term vigabatrin treatment in children and adolescents with epilepsy. *Clin Neurophysiol* **111**, 2150-2154.

ANEXO:

Artículo publicado