

EPILEPSIA EXPERIMENTAL EN PEQUEÑOS ANIMALES

Por

Gerardo González C.
F. de Balbian Verster.
A. Barros.

INTRODUCCION

La producción de Epilepsia experimental ha sido realizada utilizando diferentes técnicas, entre las cuales tenemos las usadas por Kopeloff (1942), quien reproduce agudos e intermitentes estados convulsivos en monos, aplicándoles sobre la corteza cerebral —zona motora— discos con sustancias inmunológicamente activas, como también con hidróxido de alúmina; más tarde el mismo grupo de Kopeloff (1947 - 1954), Pope (1947), Cure, Ramusen y Jasper (1948) obtienen epilepsia cortical en monos con la crema de alúmina, colocada sobre la corteza motora.

Walker y Johnson (1948) experimentaron con la proteína de alumbre, y años después Johnson y Walker (1952) con la alúmina precipitada en

clara de huevo obtuvieron epilepsia cortical en monos. Gastaut (1953) usó la alúmina en regiones subcorticales y especialmente la colocó en el núcleo amigdaliano del gato.

Las soluciones acuosas de penicilina las ensayó Ralston (1958) para producir estados convulsivos en gatos y monos, depositándolas sobre la corteza cerebral y en núcleos subcorticales. Dow, R. S., y Fernández Guardiola (1962) consiguen el desarrollo de epilepsia cortical y utilizan para este fin el cobalto sobre la corteza cerebral de ratas.

En nuestros estudios de Farmacología y Química de la Epilepsia quisimos incluir pequeños animales, tales como cobayos y ratas, con el propósito de utilizar un gran número de estos ejemplares en el desarrollo de actividad epileptiforme, colocándoles

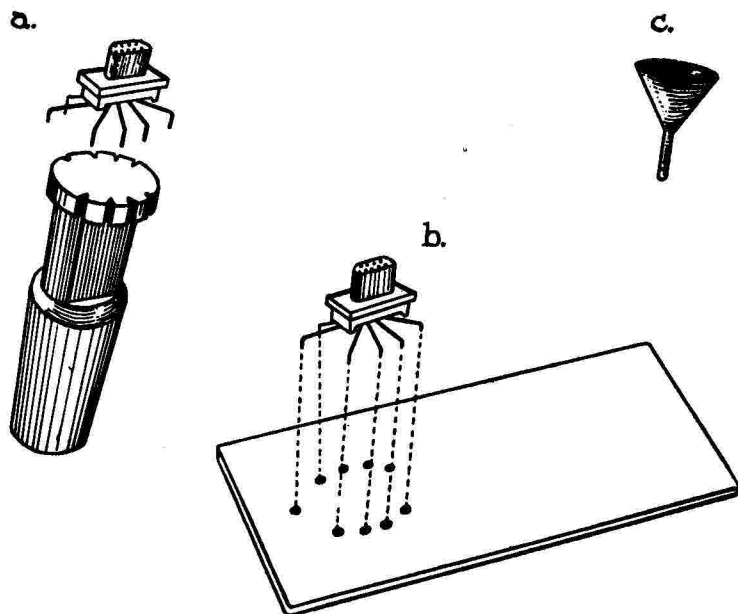


Figura Nº 1.—Elementos utilizados para la adaptación del enchufe. A. Molde plástico para darle igual dirección a los terminales. B. Molde patrón, para lograr que los electrodos (terminales) queden de una misma longitud. Pequeño embudo utilizado para depositar la alúmina sobre la corteza cerebral.

electrodos crónicos, previa aplicación de alúmina, que nos permitieran hacer registros electroencefalográficos de rutina y así poder seguir diariamente la evolución de dichos focos epilépticos.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron para este estudio cobayos y ratas (*sprague dawley*) de ambos sexos, con peso promedio de 900 y 300 gramos respectivamente, los cuales fueron anestesiados usando una mezcla de pentobarbital sódico e hidrato de cloral, descrita por Valnstein (1961).

Los animales fueron entonces fijados; asépticamente se hizo incisión de la piel del cráneo. Se utilizó un molde patrón (Fig. 1B) de nueve orificios, e igual número de puntos fueron mar-

cados sobre el hueso; luego se procedió a trepanarlos utilizando una fresa número 72. A tres milímetros posteriores de la trepanación número 6 se practicó una más, y se usó en este caso una fresa número 60: se perforó la duramadre y se introdujo con la ayuda de un pequeño embudo (Fig. 1C) un miligramo de óxido de alúmina neutro¹⁰. Un "enchufe" CANNON 9PLI se colocó sobre el cráneo, con sus terminales dentro de las respectivas trepanaciones.

Previamente el enchufe había sido preparado de la forma siguiente: se colocó sobre un molde plástico, para que cada uno de sus terminales adquiriera igual dirección, como enseña la figura 1A. Los orificios del molde patrón fueron hechos de acuerdo con la localización exacta sobre la corteza



Figura N° 2.—Cobayo dos meses después de colocados los electrodos.

cerebral del animal (Fig. 2A); el molde patrón y el hueso del cráneo tienen igual espesor, de tal modo que al colocar el enchufe sobre aquél, las partes de los terminales que sobresalen por los orificios del molde, son recortados; en esta forma logramos que cada electrodo (terminal) quede sobre la duramadre, excepción hecha del electrodo número cinco, el cual queda sobre el hueso y lo utilizamos en los registros como electrodo indiferente. Luégo los terminales son barnizados con una solución aislante (epoxilite) y colocados en la estufa a 37 grados centígrados durante 16 horas; se sacan y se les quita el aislante de los extremos en una extensión de medio milímetro. A varios animales se les fijaron además dos cánulas de polietileno

número PE10 —Clay Adams—, una sobre cada hemisferio cerebral,^{2 22}. Por consiguiente, se practicaron dos trepanaciones adicionales, se perforó la duramadre y se introdujo la cánula, quedando su extremo interno sobre la corteza cerebral, en medio de los electrodos números uno y dos, lado izquierdo, y entre el número seis y el número siete, al lado derecho; luégo se colocó el enchufe y se terminó de fijar al hueso con acrílico dental; una vez seco éste, se suturó la piel.

Para los registros, el animal se conectó al electroencefalógrafo por intermedio de un cable, que en uno de los extremos lleva la hembra del enchufe cannon 9SLI, en el otro un conector con 21 terminales-Cinch Jones P32CCT. En algunas ocasiones utilizamos un ca-

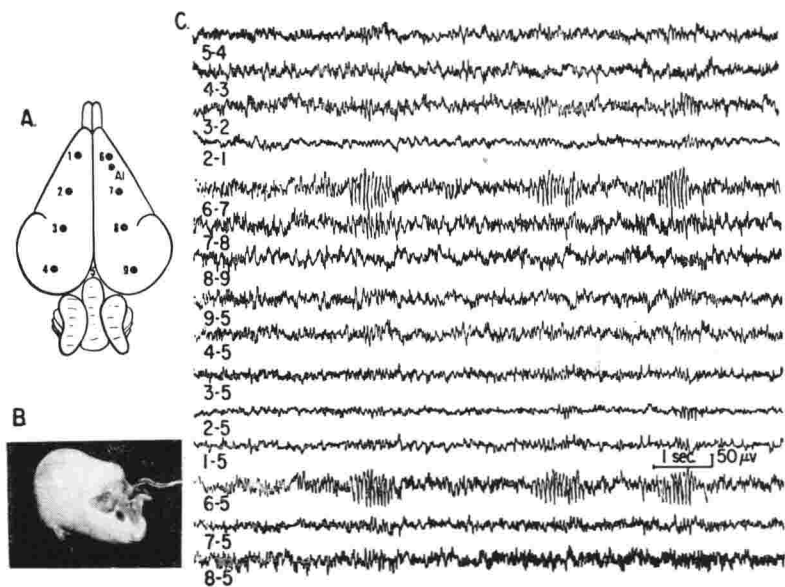


Figura N° 3.—A. Números que indican la localización de los electrodos sobre la corteza cerebral y sitio de la alúmina. B. Cobayo una semana después de operado. C. Desarrollo del foco primario con moderada propagación de su anormal actividad.

ble al que en el extremo opuesto al canon 9SLI, se le adaptaron nueve terminales para conectarlo con el E. E. G. Se usó un electroencefalógrafo tipo Grass de 16 canales; la técnica que se empleó para los registros se basó en tomar áreas corticales equivalentes en los dos hemisferios; al mismo tiempo se tomaron trazados monopares con el electrodo número cinco, dado como indiferente.

Los animales fueron registrados con libertad de movimiento dentro de la jaula, en la cual eran colocados una hora antes de iniciar cada trazado; esto con el objeto de lograr una relativa adaptación al medio.

RESULTADOS

La aplicación de la alúmina está caracterizada por una marcada inicial

depresión del voltaje en el área cortical donde aquella queda depositada; esta depresión de voltaje está comprendida o dura por término medio de dos a cuatro días, al cabo de los cuales el fenómeno es inverso, o sea que el voltaje aumenta en dicha área; se observa además una ligera desincronización de la actividad de fondo, que tiende a volverse más manifiesta al final de la primera semana; la caracteriza bastante su delimitada localización, ya que no se observa propagación alguna a otras áreas corticales, al menos en el análisis de los registros electroencefalo-gráficos, como bien puede apreciarse en la figura N° 3, aunque potenciales aislados se presentan ocasionalmente.

En un período comprendido entre los ocho y los doce días, se aprecia en el hemisferio opuesto, y más específicamente en el área homóloga, un aumento de voltaje con desincronización

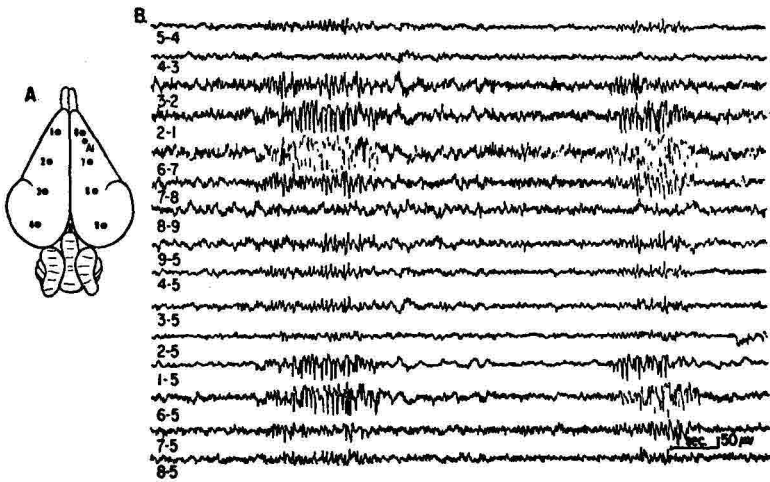


Figura N° 4.—Trazado dos semanas después.

de la actividad eléctrica cortical, y que cada vez va haciéndose más notoria hasta conseguir su completo desarrollo, aproximadamente a los quince días. (Fig. N° 4). Las descargas están sincronizadas con las del hemisferio opuesto, o sea con el foco primario, que como ya lo hemos visto es el foco de la alúmina y es bastante frecuente que las descargas de éste se propaguen a todas las áreas corticales. (Fig. N° 5).

El foco secundario empieza a producir descargas epileptiformes por sí solo, cuando el animal lleva de quince a veinte días de operado, y este foco secundario adquiere su completa independencia diez o quince días más tarde. No obstante, es frecuente que coincida una de sus descargas con las del foco primario, pero a pesar de esto sigue conservando su autonomía con sus características de descarga, sin experimentar cambio alguno espontáneo, aproximadamente durante un año.

En el foco primario se suceden cambios en relación a su actividad eléctrica, y así tenemos por lo tanto que entre los dos y medio a tres y medio primeros meses, después del irritante, las

descargas empiezan por sucederse con menos frecuencia, al paso que el voltaje va decreciendo en su amplitud; esta nueva característica del foco primario termina casi por completo con la actividad eléctrica anormal observada anteriormente; más o menos al término de cuatro meses es muy excepcional registrar descargas en el foco primario.

DISCUSION

Anteriores experimentaciones confirman la producción del foco primario con actividad y características epileptogénicas, así como también el desarrollo en el hemisferio opuesto del foco secundario o foco "espejo" (Kopeloff 1947), (Cure 1950), (Eidelberg 1959), (Morrell 1959).

Los trazados electroencefalográficos indican el desarrollo de un foco de anormalidad en la región donde fue aplicada la alúmina, con la consiguiente propagación a otras áreas del cerebro, principalmente al área homóloga, o sea al hemisferio opuesto. (Pacella 1949), (Gastaut 1959).

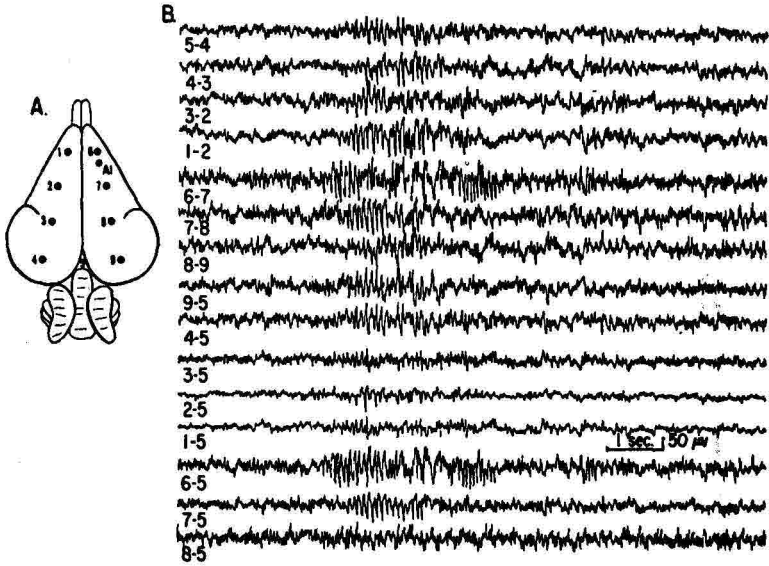


Figura Nº 5.—Propagación de las descargas epilépticas a todas las áreas corticales, 17 días después.

Las anomalías de los registros estuvieron caracterizadas por frecuentes descargas de alto voltaje, actividad lenta y una variable incidencia de potenciales de espiga. A veces se observó el complejo espiga-onda. La anormal actividad, y particularmente los potenciales de espiga, fueron más prominentes en la región donde se aplicó la alúmina¹⁵.

La formación del foco secundario implica necesariamente el constante estímulo anormal o bombardeo producido por las descargas del foco primario, sobre una área simétrica en el hemisferio opuesto, que en poco tiempo ha formado o producido cambios, bien en la estructura o bien en la función de dicha área cortical y en un período bastante breve llega a convertirse en una zona de verdadera actividad epileptiforme¹⁸.

La anormal influencia del foco primario se realiza por intermedio de fibras nerviosas comisurales, que cruzan

necesariamente el cuerpo calloso, y así tenemos los trabajos de Curtis (1940), quien concluye que la respuesta típica a la aplicación de una droga convulsivante en monos y gatos, fue facilitada por el cuerpo calloso y abolido su efecto por la sección de éste; no obstante, Van Wagenen (1940) halló que en pacientes con generalizadas convulsiones, la sección de las vías nerviosas comisurales contenidas en el cuerpo calloso, limitaba la propagación en una convulsión unilateral sin pérdida de la conciencia. Kopeloff (1950) demostró que la sección del cuerpo calloso antes o inmediatamente después de la aplicación de la crema de óxido de alúmina, causó la completa restricción de las subsiguientes descargas en el lado contralateral y que la sección, después de estar bien establecidas las descargas bilaterales, causó estados epilépticos en el lado opuesto al foco primario, mientras que la sección del cuerpo calloso previo a la aplicación de la alúmina sobre

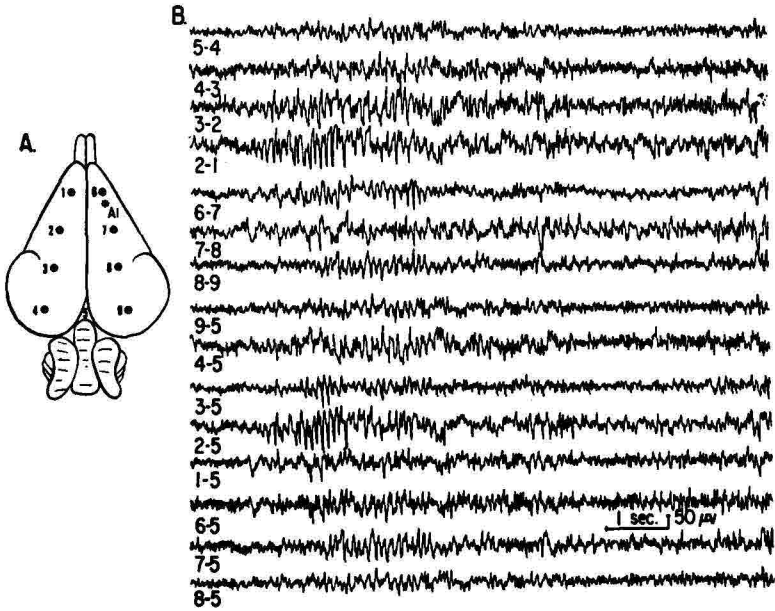


Figura N° 6.—Un mes después de creado el foco primario.

un hemisferio, desarrolló la descarga contralateral, pero no ocasionó un estado epiléptico; además, no inhibió completamente la propagación del anormal impulso eléctrico en el lado opuesto al foco. Más aún: la resección del foco primario, su inyección con procaina, o la división del cuerpo calloso, no modifican anomalías en el hemisfero opuesto⁷. El cuerpo calloso tiene gran función en la propagación de la descarga convulsiva de un hemisferio a otro, como lo hemos visto anteriormente, pero otras vías nerviosas a través del “tallo” cerebral son implicadas en la formación del foco “espejo”¹.

Nuestros experimentos confirman la formación y persistencia de ese foco secundario o foco espejo, e indican que debe ser bastante frecuente en el desarrollo de los focos epilépticos, al menos en las formas corticales, toda vez que ellos siempre se desarrollaron

en los animales que fueron utilizados en el presente estudio. Podemos deducir que el foco primario ejerce su influencia directa de disturbios anormales sobre el foco espejo o foco secundario, sólo por un corto período, hasta el momento en que este foco distante adquiere su total independencia, la cual puede perpetuar el estado convulsivo por sí sola, aun después de que el foco primario pierde o disminuye su capacidad epileptogénica.

La pérdida de la actividad eléctrica anormal observada en el foco primario, posiblemente sea ocasionada como consecuencia del desarrollo morfológico de dicho foco, como lo analiza Stercova (1959), quien observó una destacada actividad de los elementos del tejido nervioso, tales como la vascularización, la fagocitosis de la sustancia aplicada y la limitación del foco por tejido conectivo, producido todo aquello especialmente en el segundo estado,

veinte a setenta días después de operados los animales.

Por consiguiente, todo estudio, bien sea Neuroquímico o Farmacológico que se ejecute con miras a buscar cambios en las actividad eléctrica anormal del foco primario, debe ser efectuado

durante los primeros tres meses que siguen a la aplicación de la alúmina. No es posible aplicar la misma norma en relación al foco secundario, puesto que su actividad persiste por lo menos durante un año.

RESUMEN

El presente trabajo comprende la fijación crónica de un "enchufe" con nueve electrodos sobre el cráneo de pequeños animales, a los cuales previamente se les había depositado un miligramo de óxido de alúmina, en el tercio anterior del hemisferio cerebral derecho. Una cánula de polietileno les fue adaptada sobre cada hemisferio cerebral —en su tercio anterior— con el objeto de facilitar la administración intracraneal de diferentes compuestos químicos.

Se practicaron registros electroencefalográficos, con libre movimiento de los animales dentro de las jaulas, al tiempo que era posible observarlos más fácilmente.

1. En el área cortical donde se colocó la alúmina se apreció una inicial baja de voltaje durante los cuatro primeros días; ocho días más tarde se observó desincronización de la actividad de fondo, con aumento de la amplitud del voltaje y localización del foco primario.

2. En un período comprendido entre los ocho y los doce días, se registró en el hemisferio opuesto área homóloga, un mayor voltaje, con lo cual se iniciaba el foco secundario o foco "espejo", el que terminó su desarrollo a las dos semanas, pero aun siendo sus descargas dependientes del foco primario, sólo consiguió hacerse independiente diez a quince días después.

3. Transcurridos de dos y medio a tres y medio meses, después de la aplicación de la alúmina, la actividad eléctrica del foco primario empezó por decrecer en la amplitud, y las descargas se originaban con menor frecuencia, llegando inclusive a desaparecer casi por completo a los cuatro meses.

4. Estudio alguno que se realice con miras a buscar cambios en la actividad eléctrica del foco primario, debe ser ejecutado en los primeros tres meses que siguen a la implantación del animal; mas esta observación no tiene validez para el foco secundario, el cual continúa activo, aproximadamente un año.

SUMMARY

This work includes the chronic implantation of a nine electrode plug, on the skull of small animals, which had previously been treated as follows: one mi of aluminum oxide placed on the right anterior cerebral cortex. A polyethylene tube was sometimes placed on each cerebral cortex to permit

intracranial drug administration. E. E. G. recordings were made with untrained animals.

1. In the cortical area where the alumina had placed, an initial decrease in voltage was observed during the first four days. Four days later desynchronization of the background elec-

trical activity increased voltage and localization of the primary focus were observed.

2. In the period from eight to twelve days after the alumina application, the animals developed an increased of voltage in the corresponding area of the contralateral hemisphere. This corresponded to the development of a secondary or "mirror" focus which was fully developed in about two days. Its discharge at first depended on the primary focus but became independent in 10 to 15 days.

3. Two to three months after the alumina application, the electrical activity in the primary focus began to decrease and had disappeared almost completely after four months.

4. Any studies for the purpose of observing changes in electrical activity of the primary focus, should be done within the first three months after alumina application. On the other hand the secondary focus continues to fire for at least one year.

REFERENCIAS

1. Aird, R. B. and Zobell, D.: "Homologous asynchronism as an Electroencephalographic sign of focal pathology, in Proceedings of the First international congress of Neurological Sciences, Brussels". July, 1957, New York, Pergamon Press, inc 1959.
2. Andersson, B.: "The effect of injections of hypertonic NaCl-solutions into different parts of the hypothalamus of goats". *Acta physiol. Scand.*, 1953, 28: 188-201.
3. Cure, C., Rasmussen, T. and Jasper, H.: "Activation of seizures and electroencephalographic disturbances in epileptic and in control subjects with "Metrazol"". *Arch. Neurol. & Psychiat.* 59: 691, 1948.
4. Cure, C. and Rasmussen, T.: "Experimental epileptogenic lesions of the cerebral motor cortex and the insular cortex in monkeys". *E. E. G. and Clin. Neurophysiol.* 2: 354, 1950.
5. Curtis, H. J.: "Intercortical connections of the corpus callosum as indicated by Evoked Potentials". *J. Neurophysiol.* 3: 407 (sep.) 1940.
6. Dow, R., S. Fernández-Guardiola, A. and Manni, E.: "The influence of the cerebellum on experimental epilepsy". *Electroenceph, Clin. Neurophysiol.* 14: 383-398. 1962.
7. Eidelberg, E., Konigsmark, B. and French, J. D.: "Electrocortical manifestations of epilepsy in monkey". *Electroenceph. & Clin. Neurophysiol.* 11: 121-128. 1959.
8. Gastaut, H., Naquet, R. and Vigouroux, R.: "Un cas d'épilepsie amigdalienne expérimentale chez le chat." *E. E. G. & Clin. Neurophysiol.* 5: 291. 1953.
9. Gastaut, H., Meyer, A., Naquet, R. and Cavanagh, J. B.: "Experimental Psychomotor Epilepsy in the cat. Electroclinical and Anatomic-pathological Correlations". *J. Neuropath. & Exper. Neurol.* 18: 270. 1959.
10. Guerrero-Figueroa, R., De Balbian Verster, F. and Heath, R. G.: "Mirror Focus in Specific Subcortical Nuclei. Its Production and Its Modification Through Chemical Agent in cats". *Trans. Am. Neurol. Assn.* 207-209. 1962.
11. Johnson, H. C. and Walker, A. E.: "Response of experimental epileptic foci to intravenous and tropical metrazol". *E. E. G. & Clin. Neurophysiol.* 4:131. 1952.
12. Kopeloff, L. M., Barrera, S. E. and Kopeloff, N.: "Recurrent convulsive seizures in animals produced by immunologic and chemical means". *Am. J. Psychiat.* 98:881-902. 1942.
13. Kopeloff, N., Kopeloff, L. M. and Paccolla, B. L.: "The experimental production of epilepsy in animals", in *Epilepsy*, edited by Hoch and Knight, New York Grune & Stratton, pp. 167-180. 1947.
14. Kopeloff, N., Chusid, J. G. and Kopeloff, L. M.: "Epilepsy produced in macaca mulata with commercial aluminum hydroxide". *E. E. G. and Clin. Neurophysiol.* 6:303-306. 1954.

15. **Kopeloff, N., Kennard M. A., Pacella, B. L., Kopeloff, L. M. and Chusid, J. G.:** "Section of corpus callosum in experimental epilepsy in the monkey". *Arch. Neurol. & Psychiat.* 63:719-727. 1950.
16. **Morrel, F., Torres, F., Sandler, B. and Ross, G.:** "Excitability of the mirror focus". Report to American Electroencephalographic Society Meeting, Atlantic City, June 1959.
17. **Pacella, B. L., Kopeloff, N., Barrera, S. E. and Kopeloff, L. M.:** "Experimental Production of Focal Epilepsy". *Arch. Neurol. & Psychiat.* 52:189, sept. 1944.
18. **Penfield, W., and Jasper, A. H.:** "Epilepsy and the functional Anatomy of the human Brain". Boston, little, Brown & Company, 1954.
19. **Pope, A., Morris, A., Jasper, H. H., Elliott, K. A. C. and Penfield, W.:** "Histochemical and action Potential Studies on Epileptogenic areas of cerebral cortex in man and the monkey". *A. Nerv. & Ment. Dis. Proc.* 26:218-233. 1947.
20. **Ralston, B. L.:** "The mechanism of transition of interictal spiking foci into ictal Seizure discharges". *Electroenceph. & Clin. Neurophysiol.* 10:217. 1958.
21. **Stercová, A.:** "Morfologicky vyvoj Loziska hlinitého krému v Mozkové Kure Krysy". *Cs. Fysiol.* 7:319. 1959.
22. **Wagner, J. W., and De Groot, J.:** "Multipurpose cannula for acute and chronic intracerebral chemical and electrophysiological studies". *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 15: 125-126. 1963.
23. **Walker, A. E. and Jonhson, H. C.:** "Normal and pathological after-discharge from cortex". *A. Res. Nerv. & Ment. Dis. Proc.* 27: 460. 1948.
24. **Valenstein, E. S.:** "A note on Anesthetizing Rats and Guinea Pigs.". *J. Exptl. Anal. Behav.* 4.6. 1961.
25. **Van Wagenen, W. P. and Herren, R. Y.:** "Surgical division of commissural Pathways in the corpus callosum: Relation to spread of an Epileptic Attack". *Arch. Neurol. & Psychiat.* 44: 740 (Oct.) 1940.