

---

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y**  
**AGROPECUARIAS**

---



**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE CAMPOS  
ELECTROMAGNÉTICOS DE EXTREMADA BAJA FRECUENCIA  
SOBRE EL PATRÓN DE CRISIS CONVULSIVAS POR 4-  
AMINOPIRIDINA EN RATAS ADULTAS**

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

**MARÍA DEL SOCORRO BARAJAS MERCADO**

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco., Marzo de 2011



**Universidad de Guadalajara**  
**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

*Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología*  
COORD-BIO-049/2010.

C. María del Socorro Barajas Mercado  
PRESENTE

Manifestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de TESIS E INFORMES opción TESIS con el título "Efecto de la aplicación de campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia sobre el patrón de crisis convulsivas por 4-aminopiridina en ratas adultas" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como Director de dicho trabajo al Dr. Alfredo Ignacio Fera Velasco.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"PIENSA Y TRABAJA"

"2010 Bicentenario de la Independencia y Centenario de la Revolución Mexicana"  
Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 21 de Junio del 2010.



Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



M.C. GLORIA PARADA BARRERA  
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

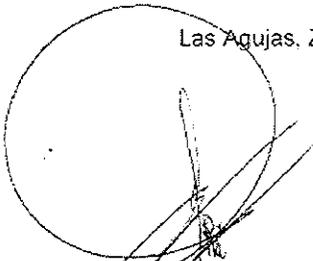
Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias.  
 Presidente del Comité de Titulación.  
 Licenciatura en Biología.  
 CUCBA.  
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad Tesis e Informes, opción Tesis con el título: "Efecto de la aplicación de campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia sobre el patrón de crisis convulsivas producidas por 4-aminopiridina en ratas adultas" que realizó la pasante María del Socorro Barajas Mercado con número de código B04007611 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

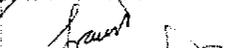
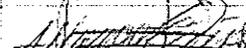
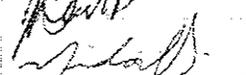
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

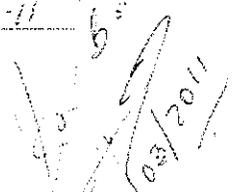
Atentamente

Las Agujas, Zapopan, Jal., 14 de febrero del 2011



Dr. Alfredo Ignacio Feria Velasco  
 Director del trabajo

Nombre completo de los Síndicos asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobación	Fecha de aprobación
Dra. Graciela Gudiño Cabrera		22 feb 2011
Dra. Mónica Elisa Ureña Guerrero		23/02/11
Dr. Jacinto Bañuelos Pineda Supl.		14-02-11
Dra. Nidia Jannette Carrillo González		28-02-11

65  
  
 03/2011

LA PRESENTE TESIS FUE REALIZADA EN EL LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA CELULAR DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA, BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. ALFREDO IGNACIO FERIA VELASCO.

## Agradezco a:

- ❖ *A mis padres Daniela y Tomasa por haberme dado la vida, porque siempre he contado con su apoyo en todas las decisiones importantes de mi vida, por haber trabajado tanto para darme la que he necesitado, por los valores que me han inculcado y sobre todo por su grande amor. Los amo!*
- ❖ *A mis hermanos: Noé, Antonio, Daniela, Francisco, Adriana y Christian, por su cariño y comprensión, gracias.*
- ❖ *A mis sobrinos Natalia, Victor, Alejandra, Francisco y Fernando, que con su sonrisa alegran mi vida.*
- ❖ *A mi tía Juan Antonia Mercado Plumey, quien siempre me ha brindado su cariño y apoyo.*
- ❖ *A mi gran amigo el Dr. José Fernando Viquez Amigo quien siempre estuvo a mi lado aun a la distancia, brindándome su amistad y cariño. Siempre animándome para que cada día continuara con nuevas huerzas.*
- ❖ *A mi director el Dr. Alfredo Feria Velasco, quien con su dirección y asesoría hicieron posible este trabajo, gracias por su apoyo y amistad, por sus enseñanzas y por su confianza, por darme la oportunidad de realizar este trabajo de investigación en su*

*laboratorio, contando siempre con sus sabias palabras que me han guiado durante el transcurso de mi carrera profesional, mil gracias. Toda mi admiración, respeto y gran cariño.*

- ❖ A la Dra. Mónica Ureña Guerrero, a quien agradezco su asesoría, su apoyo y sugerencias para la realización de este trabajo.*
- ❖ A Justo Munquía y Mónica Flores por su amistad y por su colaboración para la realización de mi trabajo de tesis.*
- ❖ A la Dra. Martha Rivera Cervantes, agradezco su apoyo para la realización de este trabajo.*
- ❖ Al Dr. Fernando Santaacruz de quien he recibido confianza, apoyo, amistad, enseñanza y buenos consejos.*
- ❖ A mi amiga Sayu, a mi amiga Licha, a mi amigo Diego, gracias por su amistad y por todos los buenos recuerdos que podamos compartir.*
- ❖ A Yanet, Rafa, Ceci, Lidia, Justo, Saúl y Carol por su amistad y por todos los buenos momentos que compartimos en el laboratorio.*

# ÍNDICE GENERAL

DESCRIPCIÓN	Página
<b>ABREVIATURAS</b>	vi
<b>RELACIÓN DE FIGURAS</b>	vii
<b>RELACIÓN DE CUADROS</b>	viii
<b>RESUMEN</b>	ix
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>ANTECEDENTES</b>	3
GENERALIDADES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	3
NEUROTRANSMISORES	3
DEFINICIÓN DE EPILEPSIA	5
Etiología de la Epilepsia	5
Clasificación de las Crisis Epilépticas	5
Modelos Experimentales de Epilepsia	7
4-AMINOPIRIDINA (4-AP)	8
4-AP en estudios <i>in vitro</i>	9
4-AP en estudios <i>in vivo</i>	10
TRATAMIENTOS PARA LA EPILEPSIA	11
LA MAGNETOTERAPIA	11
Los Campos Eléctricos (CE)	11
Los Campos Magnéticos (CM)	12
Los Campos Electromagnéticos (CEM)	12
Escala de Medición de los CEM	14
CEM y su Aplicación Terapéutica	15
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	18
<b>HIPÓTESIS</b>	19

<b>OBJETIVO GENERAL</b>	20
<b>OBJETIVO PARTICULAR</b>	20
<b>DIAGRAMA EXPERIMENTAL</b>	21
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	22
GRUPOS DE ESTUDIO	22
PARÁMETROS CONDUCTUALES EVALUADOS	22
Latencia a Manifestaciones Conductuales Preconvulsivas	22
Latencia a Convulsión Tónico-Clónica Generalizada	23
Incidencia de Convulsión Tónico-Clónica Generalizada	23
Sobrevida	23
REACTIVOS UTILIZADOS	24
EQUIPO	24
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
<b>RESULTADOS</b>	26
ALTERACIONES EN LA CONDUCTA MOTORA, CONVULSIONES INDUCIDAS POR 4-AP	26
LATENCIA DE MANIFESTACIONES CONDUCTUALES PRECONVULSIVAS	27
LATENCIA A CONVULSIÓN TÓNICO-CLÓNICA GENERALIZADA	27
INCIDENCIA DE CONVULSIÓN TÓNICO-CLÓNICA GENERALIZADA	28
SOBREVIDA	29
<b>DISCUSIÓN</b>	30
<b>CONCLUSIÓN</b>	33
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	34

## ABREVIATURAS

A/m	Amperios por metro
ANOVA	Análisis de Varianza
4-AP	4-Aminopiridina
Ca <sup>++</sup>	Ión calcio
CE	Campo Eléctrico
CEM	Campos Electromagnéticos
CEMebf	Campos Electromagnéticos de extremada baja frecuencia
CM	Campo Magnético
CTCG	Convulsión tónico-clónica generalizada
ebf	Extremada baja frecuencia
EEM	Error estándar de la media
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
Glu	Ácido glutámico
Hz	Hertz
ip	Intraperitoneal
IPSP	Potencial post-sináptico inhibitor (por sus siglas en inglés: inhibitory postsynaptic potential)
K <sup>+</sup>	Ión potasio
KV/m	Kilovoltios por metro
mT	militeslas
Na <sup>+</sup>	Ión sodio
pc	Peso corporal
rTMS	Estimulación magnética transcraneal repetitiva (por sus siglas en inglés: repetitive transcranial magnetic stimulation)
seg	segundos
SNC	Sistema Nervioso Central
T	Teslas

## RELACIÓN DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Fig. 1	Espectro electromagnético	14
Fig. 2	Colocación de los animales para su observación y evaluación conductual	23
Fig. 3	Colocación de los animales en las bobinas Helmholtz	24
Fig. 4	Diagrama de la densidad de flujo de las bobinas Helmholtz	25
Fig. 5	Latencia a conductas preconvulsivas	27
Fig. 6	Latencia a convulsión tónico-clónica generalizada	28

## RELACIÓN DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Cuadro 1	Clasificación internacional de las crisis epilépticas	6
Cuadro 2	Modelos experimentales de inducción de crisis epilépticas	8
Cuadro 3	Incidencia de convulsión tónico-clónica generalizada	28
Cuadro 4	Sobrevida	29

## RESUMEN

La epilepsia es una alteración crónica del sistema nervioso central que se caracteriza por una excitabilidad excesiva, que origina crisis recurrentes, espontáneas, autolimitadas e impredecibles, que pueden ser convulsivas o no convulsivas. Aunque existen varios abordajes terapéuticos exitosos para el manejo de la epilepsia, en ciertas condiciones las crisis epilépticas llegan a ser de difícil control farmacológico, por lo cual es necesario desarrollar nuevas estrategias. Se ha observado que la aplicación de campos electromagnéticos de extremadamente baja frecuencia (CEMebf) en animales adultos modifica las propiedades de permeabilidad de la barrera hematoencefálica. Por otro lado, se han reportado resultados contradictorios en cuanto a los efectos de CEM sobre el control de las crisis epileptiformes. Por lo que en el presente trabajo, se evaluó el efecto de la aplicación de los CEMebf sobre las crisis epileptiformes inducidas por el convulsionante 4-aminopiridina (4-AP) en ratas adultas. Se utilizaron ratas machos de la cepa *Wistar* de aproximadamente 250-300g, las cuales se dividieron en los siguientes grupos experimentales: Grupo I: Control solución salina; Grupo II: Animales sometidos a la aplicación de CEMebf (2 h/día/7 días); Grupo III: Animales que recibieron la administración intraperitoneal de 4-AP (5.5 mg/Kg de peso corporal) y Grupo IV: Animales CEMebf+4-AP, a los que una hora después del séptimo día de aplicación de los CEMebf, se les administró la 4-AP (5.5 mg/Kg de peso corporal). Los parámetros evaluados fueron los siguientes: latencia de manifestaciones conductuales pre-convulsivas, latencia de convulsiones tónico-clónica generalizadas (CTCG), distribución del número de animales por episodios convulsivos CTCG y la sobrevida. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las latencias de las conductas evaluadas, sin embargo la aplicación de los CEMebf aumento la sobrevida a las CTCG, dado que el 70% de los animales del grupo III murió durante la primera

CTCG, en tanto que sólo el 10% de los animales del grupo IV murió en dicho evento, llegando a resistir hasta 4 CTCG. Los resultados sugieren que la aplicación de CEMebf podría llegar a constituir una alternativa de tratamiento para las crisis convulsivas, sin embargo, las bases fundamentales de los efectos biológicos de los CEM aún no están bien establecidas, por lo que se requieren de otros estudios.

# INTRODUCCIÓN

El tejido nervioso está constituido básicamente por dos tipos de células: neuronas y células gliales. Tanto desde el punto de vista anatómico como bioquímico, las neuronas son células especializadas en captar, integrar, conducir, transmitir y procesar la información. Una neurona consta del soma o cuerpo neuronal, diversas prolongaciones cortas llamadas dendritas y una prolongación generalmente más larga llamada axón, por donde viajan señales bioeléctricas, que permiten la comunicación entre las neuronas, a través de una sinapsis, la cual puede ser de tipo química o eléctrica (Kandel y col., 2001). En una sinapsis de tipo químico la célula presináptica y la post-sináptica no tienen contacto físico directo, se encuentran separadas por el espacio intersináptico, el cual debe ser atravesado por una sustancia mediadora de la comunicación, el neurotransmisor (Sieguel y col., 1999).

Los neurotransmisores son sustancias químicas que se liberan de las células presinápticas, en respuesta a la llegada de señales bioeléctricas en la terminal axónica; una vez en el espacio intersináptico, el neurotransmisor actúa sobre receptores específicos, que se ubican en la célula post-sináptica, el tipo de receptor determina la señal intracelular que se genera y por lo tanto, la respuesta celular a dicho estímulo. Neurotransmisores como el ácido glutámico (Glu) y el ácido gamma-aminobutírico (GABA) son considerados como los principales neurotransmisores que regulan respuestas excitadoras e inhibitoras, respectivamente, en el sistema nervioso central (SNC) en mamíferos (Sieguel y col., 1999). Las alteraciones en alguno de estos sistemas de neurotransmisión, se relacionan con los mecanismos fisiopatológicos de diversas enfermedades neurológicas, entre ellas la epilepsia.

La epilepsia es un problema de salud pública importante, que tiene una elevada incidencia de aproximadamente un 2% en la población mundial y en México se tienen cifras de prevalencia de 10 a 20 epilépticos por 1000 habitantes (García,

1997; Morales-Chacón y Trápaga-Quincoses, 2010). Las personas que son afectadas por este síndrome reciben tratamiento farmacológico con la intención de controlar las crisis; sin embargo, hasta en un 30% de los casos llegan a ser pacientes con epilepsia intratable o farmacorresistente (Morales-Chacón y Trápaga-Quincoses., 2010).

La estimulación con campos electromagnéticos (CEM) de baja frecuencia, representa un foco de interés para los científicos, debido a sus efectos diversos sobre diferentes sistemas biológicos. Numerosos estudios básicos y clínicos se han publicado sobre efectos positivos y negativos de la estimulación con CEM de muy baja frecuencia; sin embargo aún no hay una certeza científica sobre su mecanismo de acción. Se han empleado diferentes modelos de estudio para conocer los efectos de los CEM, los cuales varían desde la utilización de organismos completos, hasta modelos a nivel celular, en los que se incluyen varios abordajes de tipo físico, químico, biofísico, bioquímico, de biología molecular e ingeniería bio-eléctrica; así como las ciencias médicas y la práctica clínica. Algunos autores han comunicado efectos terapéuticos benéficos para el tratamiento de úlceras cutáneas, la osteoporosis, la reducción del dolor y en algunas formas de epilepsia.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la estimulación con campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia (CEMebf) sobre la susceptibilidad a las crisis convulsivas, inducidas por la administración sistémica de 4-aminopiridina en ratas adultas.

# **ANTECEDENTES**

## **GENERALIDADES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

La función principal del sistema nervioso es regular y coordinar las actividades fisiológicas de los organismos. El funcionamiento normal del SNC depende de la comunicación entre las neuronas, siendo la neurona la unidad anatómica y funcional (Donald., 1984). Las neuronas son células especializadas cuya función primordial se relaciona con la trasmisión de impulsos bioeléctricos, los cuales conducen a la liberación de neurotransmisores o a cambios en la conductancia iónica, condiciones que permiten la comunicación interneuronal y el establecimiento de la función nerviosa (Sieguel y col., 1999).

La excitabilidad es la propiedad que tienen ciertas células para generar respuestas bioeléctricas ante los estímulos que reciben. La respuesta eléctrica generada por las células nerviosas depende del tipo y distribución de los canales iónicos en la membrana celular; así como de los diferentes moduladores que regulan su actividad.

## **NEUROTRANSMISORES**

La neurotransmisión excitadora e inhibidora en el SNC son mediadas primordialmente por ácido Glutámico (Glu) y ácido gamma-aminobutírico (GABA), respectivamente. El Glu se considera uno de los principales neurotransmisores excitadores en el SNC de los mamíferos, es un aminoácido no esencial que pasa con dificultad a través de la barrera hematoencefálica; las enzimas que lo sintetizan y metabolizan se localizan principalmente en las neuronas y las células gliales. Una vía de síntesis del glutamato es a partir de la glutamina, la cual se sintetiza en la glía y es transportada a la terminal nerviosa donde por acción de la glutaminasa se convierte en glutamato. El Glu se almacena en vesículas sinápticas por un proceso dependiente de ATP.

Después de la llegada de un potencial de acción a la terminal presináptica se libera de manera dependiente de  $Ca^{++}$  y participa en la respuesta post-sináptica excitadora. El efecto excitador del Glu sobre la célula post-sináptica depende de su interacción con dos tipos de receptores los ionotrópicos y los metabotrópicos, el efecto del glutamato en la hendidura sináptica termina con el transporte del mismo a las células gliales o las terminales presinápticas a través de la actividad de los transportadores a glutamato (Siegel y col., 1999).

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC se sintetiza por acción de la descarboxilasa del ácido glutámico (L-glutamato-1-decarboxilasa, GAD) la cual remueve el grupo  $\alpha$ -carboxilo del glutamato para producir GABA y  $CO_2$ . Existen dos formas de GAD en el SNC la  $GAD_{67}$  y la  $GAD_{65}$ . El GABA se libera de la terminal sináptica y se remueve del espacio intersináptico por los transportadores de GABA presentes en la glía, y donde es transaminado por la enzima transaminasa de GABA (GABA-T). El GABA interactúa con receptores específicos de membrana, los cuales se clasifican en receptores GABA-A y GABA-B, el primero al activarse produce hiperpolarización de la membrana, la cual inhibe la excitabilidad neuronal, es decir, induce un potencial post-sináptico inhibitorio rápido (IPSP, por sus siglas en inglés). El segundo, GABA-B es una proteína acoplada a canales iónicos de  $Ca^{++}$  o  $K^+$ , por medio de proteínas que unen GTP. La activación del receptor inhibe a la adenilato ciclasa y la formación de fosfatos de inositol, lo que resulta en la inhibición de canales de  $Ca^{++}$  dependientes de voltaje y en un aumento en la conductancia de  $K^+$ , que genera IPSP lentos, lo que provoca la inhibición de la liberación de neurotransmisores (Kandel y col., 2001).

Otros neurotransmisores que participan de manera importante en la regulación de la excitabilidad dentro del SNC son la acetilcolina, la serotonina, la histamina, la dopamina y la norepinefrina (Siegel y col., 1999).

## **DEFINICIÓN DE EPILEPSIA**

La epilepsia es un desorden neurológico de carácter crónico-degenerativo que se caracteriza por la aparición súbita, espontánea y recurrente de episodios de descargas paroxísticas en el cerebro, que constituyen las llamadas crisis epilépticas, las cuales se presentan como resultado de descargas neuronales excesivas, hipersincrónicas y autolimitadas, de etiología diversa y manifestaciones clínicas variadas. Las crisis epilépticas pueden ser convulsivas o no convulsivas y pueden estar asociadas con alteraciones cognoscitivas, motoras, sensoriales, autonómicas o psicológicas identificables (Engel Jr, 2001).

### **Etiología de la Epilepsia**

Entre los factores causales de la epilepsia, se consideran algunas alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso durante la etapa prenatal, complicaciones sistémicas asociadas al parto, alteraciones vasculares del sistema nervioso central, traumatismos craneoencefálicos, procesos inflamatorios e infecciosos, así como infecciones parasitarias en el SNC (Carod-Artal, 2009). Igualmente, alteraciones cicatriciales y regenerativas, procesos neurodegenerativos y tumores del sistema nervioso central constituyen otros tipos de factores causales de crisis epilépticas. Sin embargo, solamente cerca del 40% de los casos de epilepsia pueden asociarse claramente a algunos de estos factores, de manera que alrededor del 60% de los casos de epilepsia permanecen sin la identificación clara de su causa y constituye así, el grupo de las epilepsias idiopáticas. En algunos casos de epilepsia se considera como un factor importante, la predisposición genética (García, 1997; Yusta, 2005).

### **Clasificación de las Crisis Epilépticas**

La clasificación de las crisis epilépticas de 1981 está basada en dos categorías, la epilepsia generalizada y la epilepsia parcial o focal. La epilepsia generalizada

altera la función en ambos hemisferios simultáneamente y afecta el estado de conciencia rápidamente y la epilepsia focal involucra una pequeña porción del cerebro, generalmente alguna región de la corteza cerebral (Hilderbrand y col., 2007).

En la actualidad, la Clasificación Internacional de las Crisis Epilépticas más aceptada es la que emitió el Grupo de Terminología y Clasificación, de la Liga Internacional Contra la Epilepsia, que se basa fundamentalmente en la caracterización clínica de las crisis y las manifestaciones electroencefalográficas de las mismas, como se muestra en el cuadro 1.

### **Cuadro 1: Clasificación internacional de las crisis epilépticas**

#### **1. CRISIS FOCALES**

##### **1.1 CRISIS FOCALES SIMPLES**

- 1.1.1 De semiología motora
  - 1.1.1.1 Sin marcha
  - 1.1.1.2 Con marcha
  - 1.1.1.3 Versivas
  - 1.1.1.4 Posturales
  - 1.1.1.5 Fonatorias
- 1.1.2 De semiología sensitiva
  - 1.1.2.1 Somatosensorial
  - 1.1.2.2 Visuales
  - 1.1.2.3 Auditiva
  - 1.1.2.4 Gustativa
  - 1.1.2.5 Olfatoria
  - 1.1.2.6 Vertiginosa
- 1.1.3 De semiología autonómica
- 1.1.4 De semiología psíquica
  - 1.1.4.1 Disfásicas
  - 1.1.4.2 Dismnésicas
  - 1.1.4.3 Cognitivas
  - 1.1.4.4 Del talante
  - 1.1.4.5 Ilusiones
  - 1.1.4.6 Alucinaciones

##### **1.2 CRISIS FOCALES COMPLEJAS**

- 1.2.1 Crisis focales simples, seguidas de desconexión.
- 1.2.2 Crisis con desconexión al inicio
- 1.2.3 Con automastismos

##### **1.3 CRISIS FOCALES SECUNDARIAMENTE GENERALIZADAS**

- 1.3.1 Crisis focales simples secundariamente generalizadas
- 1.3.2 Crisis focales complejas secundariamente generalizadas
- 1.3.3 Crisis focales simples que pasan a crisis focales complejas secundariamente generalizadas

##### **2. CRISIS GENERALIZADAS**

- 2.1 Ausencias
- 2.2 Mioclonias
- 2.3 Tónicas
- 2.4 Clónicas
- 2.5 Tónico-clónicas
- 2.6 Atonicas

##### **3. CRISIS NO CLASIFICADAS**

##### **4. OTRAS**

Engel JJr, 2006. Tomado de ([www.ilae-epilepsy.org](http://www.ilae-epilepsy.org)).

## **Modelos Experimentales de Epilepsia**

Con el objeto de entender los mecanismos de producción de las convulsiones y en general, las manifestaciones de hiperexcitabilidad cerebral en los casos de epilepsia humana, los investigadores de diferentes grupos de trabajo han empleado diversos modelos experimentales en animales de laboratorio y en preparaciones de rebanadas de tejido cerebral, siempre considerando los lineamientos éticos internacionales para el uso y manejo de los animales de laboratorio.

El estudio controlado y sistematizado de los modelos experimentales se ha realizado fundamentalmente para:

- 1) investigar los mecanismos neuronales básicos implicados en la generación, propagación y supresión de las crisis epilépticas, sean o no convulsivas;
- 2) evaluar los mecanismos de acción de los fármacos antiepilépticos comúnmente conocidos; y
- 3) el diseño de nuevos fármacos anticonvulsionantes con efectos antiepilépticos, con menores efectos colaterales y de menor costo, que permitan establecer esquemas racionales y efectivos de tratamiento en la epilepsia humana (Feria-Velasco y col., 1997).

Entre los diferentes modelos utilizados para evaluar el fenómeno epiléptico, uno de los comúnmente utilizados, es la administración de diferentes compuestos químicos que actúan a través de la modificación de la neurotransmisión induciendo crisis generalizadas si son administrados en forma sistémica, por ejemplo: pentilenetetrazol, homocisteína, estricnina, 4-Aminopiridina, como se muestra en el cuadro II.

## Cuadro II. Modelos experimentales de inducción de crisis epilépticas

Administración sistémica de sustancias convulsionantes	Administración tópica de sustancias irritantes	Estimulación eléctrica	Especies susceptibles genéticamente a presentar crisis convulsivas
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pentilenetetrazol (Lazarova y Rousinov, 1979)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Penicilina (Fariello, 1976)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Electrochoque (Swinyard, 1972)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Fotosensibilidad en el babuino papio-papio (Killam y col., 1967)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• L-Glutamato monosódio (Kenney y Tidball, 1972)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Crema de alúmina (Lockard y col., 1975)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Kindling (estimulación eléctrica repetida de baja intensidad) (Rosenblueth y Cannon, 1942)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Crisis convulsivas en el gerbil (<i>Meriones unguiculatus</i>) (Loskota y Lomax, 1975)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bicuculina (Kuschinsky y Wahl, 1979)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Cobalto (Emson y Joseph, 1975)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Sensibilidad acústica de ratones (Thomas y Gilbert, 1985)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estricnina (Alemán-Alemán y Martínez M, 1983)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pricotoxina (Thomas., 1990)</li> </ul>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solventes orgánicos (Contreras y col. 1979)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ácido Kaínico (Ben-Ari y col., 1979)</li> </ul>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rojo de rutenio (Tapia y col., 1976)</li> </ul>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4-Aminopiridina (Pasantes-Morales y Arzate, 1981)</li> </ul>			

Modificado a partir de Feria-Velasco y col., 1986

### 4-AMINOPIRIDINA

La 4-Aminopiridina (4-AP) es uno de los convulsionantes más utilizados para la investigación en trabajos de epilepsia; la 4-AP es un bloqueador de los canales de potasio dependientes de voltaje (Kobayashi y col., 2008, Peña y Tapia, 2000), lo que favorece el retardo del cierre de los canales de Ca<sup>++</sup> dependientes

de voltaje, la corriente entrante de  $Ca^{++}$  se prolonga, provocando la liberación masiva de neurotransmisores de manera inespecífica e independiente del tipo de sinapsis o especie celular. Sin embargo, al parecer, se presenta una mayor liberación del neurotransmisor excitador glutamato (Medina-Ceja y col., 2008). Además, los efectos excitadores de la 4-AP se relacionan directamente con la generación de crisis convulsivas en modelos experimentales *in vivo* o de actividad epileptiforme *in vitro*, así como en el humano (Thesleff, 1980; Glover, 1982; Versteeg y col., 1995; Niitykoski y col., 2004).

Dado que la 4-AP cruza rápidamente la barrera hematoencefálica, se ha observado que cuando se administra por vía intraperitoneal a una dosis de 5 mg/kg de peso corporal (pc), se presentan crisis convulsivas con una latencia muy corta (Mihály y col., 2001). Además, con esa dosis, el 30% de las ratas presentan actividad convulsiva; mientras que la dosis necesaria para que el 100% de los animales presente crisis se ha reportado alrededor de 7.5 mg/Kg de pc. Las crisis inducidas por 4-AP, presenta un patrón convulsivo considerado como de tipo tónico-clónico (Feria-Velasco y col. 1986). Los signos y síntomas de la administración de 4-AP se caracterizan por el aumento en la actividad exploratoria, seguido de sacudidas, temblor, movimiento de vibrisas, clonos de extremidades delanteras, aparición de convulsiones tónico-clónicas generalizadas (CTCG) y la muerte en animales de laboratorio (Mihály y col., 2001).

#### **4-AP en estudios *in vitro***

En estudios *in vitro*, la perfusión de una solución de 4-AP, en concentración en el rango micromolar, en rebanadas de hipocampo induce un aumento en el potencial post-sináptico excitatorio (Yan y col., 2004). La 4-AP genera potenciales hiperpolarizantes y despolarizantes, debido a su posible acción sobre receptores GABAérgicos observándose una despolarización a nivel de la membrana de células piramidales de la región CA3 (Avoli y col., 1993). Así

mismo se ha demostrado que algunas sustancias que abren los canales de potasio (NS-309, DCEBIO y 1-EBIO) suprimen la actividad de 4-AP en cultivo de neuronas hipocampales de embriones de rata, mediante la medición de la concentración de sodio intracelular por técnicas fluorescentes (Kobayashi y col., 2008).

#### **4-AP en estudios *in vivo***

Por otra parte, utilizando animales en libre movimiento a los que se les administró 4-AP intracerebralmente se observó un patrón conductual en el cual se presenta inicialmente la hiperexcitación, seguido por la aparición de convulsiones tónico-clónicas generalizadas e incluso la muerte (Ureña-Guerrero, 1994). Estudios *in vivo* han mostrado que la 4-AP estimula la liberación de algunos aminoácidos en el estriado y el hipocampo (Morales-Villagrán y Tapia., 1996). Así mismo Medina-Ceja y col., en el 2000 reportaron un aumento de 600% en los niveles de glutamato y 350% en glutamina, encontrándose estos aminoácidos en la corteza entorrinal. El modelo de 4-AP también ofrece la posibilidad de evaluar el mecanismo de acción de algunas drogas anticonvulsionantes que pudieran ser empleadas en la clínica (Brückner y Heinemann., 2000). Los efectos epileptogénicos de la 4-AP, se originan secundariamente por la activación de receptores a glutamato, esto se ha probado con el uso de antagonistas a los receptores NMDA como el MK-801 y CPP los cuales inhiben la generación de convulsiones originadas por 4-AP (Morales-Villagrán y col., 1996), observándose un efecto preventivo y de disminución en la intensidad de las crisis. Se ha demostrado también que la 4-AP origina crisis electroencefalográficas intensas provocando daño en regiones del hipocampo como CA1 y CA3, lo que se correlaciona con un aumento en la concentración extracelular de glutamato (Peña y Tapia., 1999, 2000).

## **TRATAMIENTOS PARA LA EPILEPSIA**

Se han aplicado diversos tratamientos para la epilepsia, por ejemplo: en pacientes con epilepsia focal, se han utilizado medicamentos anticonvulsionantes, tratamientos quirúrgicos, así como la estimulación del nervio vago (Hilderbrand y col., 2007). La epilepsia mesial temporal (EMT) es un síndrome de crisis parciales, típicamente intratable con anticonvulsionantes, sin embargo, estos pacientes son candidatos a la intervención quirúrgica (Haut y col., 2004). Se ha llevado a cabo el implante de un estimulador del nervio vago, en individuos con depresión y epilepsia, para su tratamiento (Schrader y col., 2005). Entre los principales fármacos utilizados para el tratamiento de la epilepsia están las benzodiazepinas (lorazepam, diazepam), el ácido valpróico o los barbitúricos como el fenobarbital, pentobarbital y otros (Stasiukyniene y col., 2009). La efectividad de los diferentes tipos de tratamiento es muy variada y depende de los diferentes factores implicados en la fisiopatogenia de cada tipo de epilepsia, por lo que eso debe evaluarse de manera individual en cada paciente.

## **LA MAGNETOTERAPIA**

En la antigüedad, varios físicos en China, Japón y Europa aplicaron materiales magnéticos naturales, para el tratamiento de algunas enfermedades. Uno de los primeros relatos científicos es el libro "De Magnete" escrito en 1600 por William Gilbert. La magnetoterapia comienza en Japón, inmediatamente después de la segunda guerra mundial al introducir la aplicación de los campos electromagnéticos en la práctica clínica (Markov., 2007).

### **Los Campos Eléctricos (CE)**

La presencia de cargas eléctricas en reposo o en movimiento originan CEM, su intensidad se mide en voltios por metro (V/m) o en kilovoltios por metro (KV/m); entre más elevado sea el voltaje, más intenso será el campo que resulte. Todo

aparato conectado a una red eléctrica, aunque no esté encendido, está sometido a un campo eléctrico que es proporcional a la tensión de la fuente a la que está conectado. Los campos eléctricos son más intensos cuanto menor es la distancia a la carga o conductor que lo genera (Cabal y col., 2005).

### **Los Campos Magnéticos (CM)**

Los CM son originados por la presencia de corrientes eléctricas en movimiento. Su intensidad se mide en amperios por metro (A/m), aunque suele expresarse en función de la inducción magnética que produce, medida en teslas (T). Todo aparato conectado a una red eléctrica generará en torno suyo un campo magnético, cuanto mayor es la intensidad de la corriente, mayor será la intensidad del campo. La intensidad del CM es más intensa en puntos cercanos a su origen, disminuyendo conforme aumenta la distancia desde la fuente (Tipler y Mosca, 2005).

### **Los Campos Electromagnéticos (CEM)**

Los campos electromagnéticos son producidos cuando existe flujo de corriente eléctrica a través de conductores o líneas de poder (Goodman y col., 1993). Las magnitudes que caracterizan a un CEM, son su frecuencia y su longitud de onda. La frecuencia describe el número de oscilaciones o ciclos por segundo, mientras que la longitud de onda se describe como la distancia entre una onda y la siguiente. Algunas ondas electromagnéticas transportan tanta energía que son capaces de romper los enlaces entre las moléculas y se conocen como radiaciones ionizantes. Las radiaciones compuestas por cuantos de luz sin energía suficiente para romper los enlaces moleculares, se conocen como radiación no ionizante. Las fuentes de CEM generadas por el hombre como son la electricidad, las microondas y los campos de radiofrecuencia están en el extremo del espectro electromagnético correspondiente a longitudes de onda

relativamente largas y frecuencias bajas, por lo que no son capaces de romper enlaces químicos (Cabal y col., 2005, Gutiérrez-Mercado, 2009).

En el medio en que vivimos hay CE y CM, los cuales están presentes de forma natural y los generados por el hombre. La Tierra naturalmente posee un campo magnético conocido también como geomagnetismo (Cabal y col., 2005, Gutiérrez-Mercado, 2009).

El campo magnético terrestre provoca la orientación de las agujas de los compases en dirección Norte-Sur. Además por medio de él los animales también pueden orientarse. La radiación electromagnética natural comprende principalmente:

- Luz solar
- Geomagnetismo de la tierra
- Tormentas eléctricas

En general, los campos electromagnéticos generados por equipos que son fabricados por el hombre, se pueden categorizar en 5 grupos (Markov., 2007):

- **Campos magnéticos permanentes** (campos estáticos, originados por imanes y su corriente es directa).
- **Campos electromagnéticos de pulso** (caracterizados por bajas frecuencias con una amplitud específica).
- **Campos de pulso de radiofrecuencia** (son los que utilizan frecuencias de 27.12 MHz y 30-100 GHz, como las de la radio).
- **Estimulación magnética transcraneal** (su aplicación es solo en una porción del cerebro, aplicando pulsos muy cortos).
- **Campos electromagnéticos de baja frecuencia** (son los más utilizados, su frecuencia es baja, de 50 o 60 Hz y son generados a partir de líneas de poder).

## Escala de Medición de los CEM

Los CEM son variables según su frecuencia, entre los que se encuentran los CEM de frecuencia extremadamente baja de 0-300 Hz, los que se conocen como de frecuencia intermedia de 300 Hz a 10 MHz y CEM con frecuencia alta o radiofrecuencia de 10MHz a 300 GHz (Fig. 1). Las radiaciones de frecuencia baja son emitidas por la red de abastecimiento eléctrico y todos los aparatos eléctricos. Los campos de frecuencia intermedia se producen principalmente en las pantallas de computadoras, los dispositivos antirobo y los sistemas de seguridad. Las principales fuentes de campos de radiofrecuencia son la radio, la televisión, las antenas de telefonía móvil e inalámbricos, los hornos de microondas y las antenas de radares (Cabal y col., 2005).

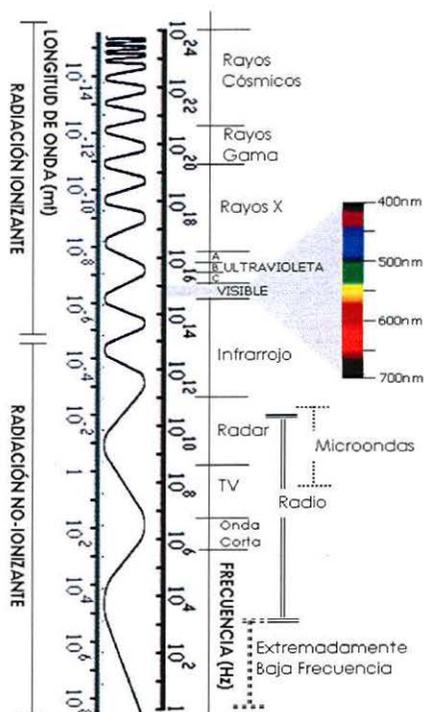


Figura 1. Espectro electromagnético. La imagen muestra la escala de frecuencia (Hz) y amplitud para los CEM de extremada baja frecuencia. Tomado de Feria-Velasco y col., 2009.

## CEM Y SU APLICACIÓN TERAPÉUTICA

En la actualidad ha habido un aumento de los estudios relacionados con la aplicación de campos magnéticos como alternativas complementarias en la medicina. Las investigaciones relacionadas con campos magnéticos en un rango de 100 a 300 militeslas (mT), han demostrado tener efectos variables en diferentes modelos animales. Los estudios de los efectos biológicos de los CEM se han realizado tanto *in vivo* como *in vitro*, en los cuales se ha observado que los campos electromagnéticos influyen a nivel hormonal, modificaciones en el manejo de iones a nivel de la membrana celular y modificaciones en varios procesos intracelulares como es la síntesis de proteínas (McLean y col., 2001).

Las aplicaciones clínicas más relevantes de los CEM por su probada eficiencia durante los últimos 25 años, se relacionan con la reparación ósea, reducción del dolor y el edema tisular. Además se ha reconocido que inducen un efecto anti-inflamatorio, empleándose como tratamiento post-quirúrgico, postraumático y en lesiones crónicas principalmente en músculo esquelético (para revisión ver: Markov, 2007). La estimulación de CEM en estudios *in vitro* se ha realizado en cultivos de células de médula adrenal, en presencia del factor de crecimiento neural (NGF), induciendo cambios fenotípicos, caracterizados por la presencia de neuritas; además se ha observado que la estimulación con CEMebf por 7 días de exposición, dos veces al día con un flujo de densidad del campo magnético de 0.7 mT, inducen un fenotipo con características determinantes en la diferenciación neuronal (Feria-Velasco y col., 1998).

Otros trabajos se han realizado para evaluar el impacto de CEM en células endoteliales vasculares de humanos, estimuladas con CEM con una intensidad de 1mT, 50 Hz durante 12 h, observándose un aumento en la proliferación celular y formación de tubulina, así como la aceleración en el proceso de cicatrización, en la reorganización de las fibras de actina y complejos de adhesión, mediante el análisis de western blot, también se observó un

incremento en la fosforilación y una sobreexpresión de receptores a factores de crecimiento de células endoteliales (Delle y col., 2008).

Estudios sugieren que la angiogénesis, tanto *in vitro* como *in vivo*, pueden estar influenciados por varias formas de estimulación electromagnética, ejemplo de ello es el empleo de los campos electromagnéticos para el tratamiento de úlceras en pie diabético (Cañedo y col., 2002).

En una investigación realizada en 2004 se determinó que la estimulación magnética transcraneal (EMT) en ratas adultas induce neurogénesis en la zona subventricular, además se observó que la EMT previene el desarrollo de alteraciones motoras, inducidas por una lesión nigro-estriatal (vías dopaminérgica), por lo que se sugiere que el uso de EMT sería un tratamiento potencial terapéutico para la enfermedad de Parkinson (Arias-Carrión y col., 2004).

Durante años se han acumulado evidencias considerables que indican que los campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia (CEMebf) pueden inducir cambios moleculares en sistemas biológicos y existen datos que indican que su efecto se relaciona con la amplitud y la frecuencia del campo electromagnético (Nordén y Ramel., 1992). La aplicación de campos estáticos con un cambio en el gradiente de densidad de flujo y un adecuado manejo de la distancia al factor de inducción, podrían proveer propiedades neuroprotectoras (McLean y col., 2001).

Algunos estudios han analizado el efecto de la estimulación magnética transcraneal en corteza cerebral, mostrando que es posible que los CEM puedan modular la actividad motora (Legros y Beuter, 2006).

La aplicación de campos magnéticos estáticos en combinación con anticonvulsionantes como la fenitoina en ratones a los que se les indujeron

crisis audiogénicas (McLean y col., 2003), demostró que la severidad de las crisis disminuyó y el efecto de la droga anticonvulsionante se potenció por los CEM. De la misma manera en un trabajo con ratones *Swiss*, se demostró la propiedad anticonvulsionante de los campos magnéticos estáticos (McLean y col., 2008).

La exposición de ratones a campos electromagnéticos a los cuales se les indujo crisis convulsivas mediante la aplicación intraperitoneal de Pentilenetetrazol (PTZ), mostraron un aumento en la latencia a crisis convulsivas, en la duración de sus crisis convulsivas y el porcentaje de mortalidad también fue mayor (Seyhan y Gulnihal., Canseven y col., 2006).

Sin embargo este tema ha sido de gran controversia, pues otros investigadores refutan la teoría de los efectos de los CEM sobre las crisis epilépticas. Es importante mencionar que todos estos estudios, utilizan una gran variedad de frecuencias e intensidades de CEM y de ahí la variedad de los resultados comunicados.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La epilepsia es un trastorno neurológico que afecta a casi el 2% de la población mundial. Se ha estimado que más del 30% de los pacientes con epilepsia no cuentan con un buen tratamiento farmacológico por diversas razones entre ellas, el alto costo de los medicamentos, además de que la mayoría de los pacientes con epilepsia llegan a presentar resistencia farmacológica. La búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, ha generado el interés de los investigadores por la utilización de campos electromagnéticos de baja frecuencia como coadyuvante en el tratamiento para este síndrome. Los campos electromagnéticos desempeñan un papel importante en los procesos biológicos, así, se han empleado como coadyuvantes en el tratamiento de fracturas óseas, reducción del dolor, tratamiento de úlceras crónicas de pie diabético y epilepsia. De acuerdo con lo mencionado anteriormente, es que se considera importante conocer si los campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia proveen un efecto atenuador de las crisis convulsivas originadas por la administración sistémica del convulsionante 4-AP en ratas adultas.

## **HIPÓTESIS**

Los campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia disminuirán las crisis convulsivas provocadas por la aplicación sistémica de 4-aminopiridina en ratas adultas.

TESIS/CUCBA

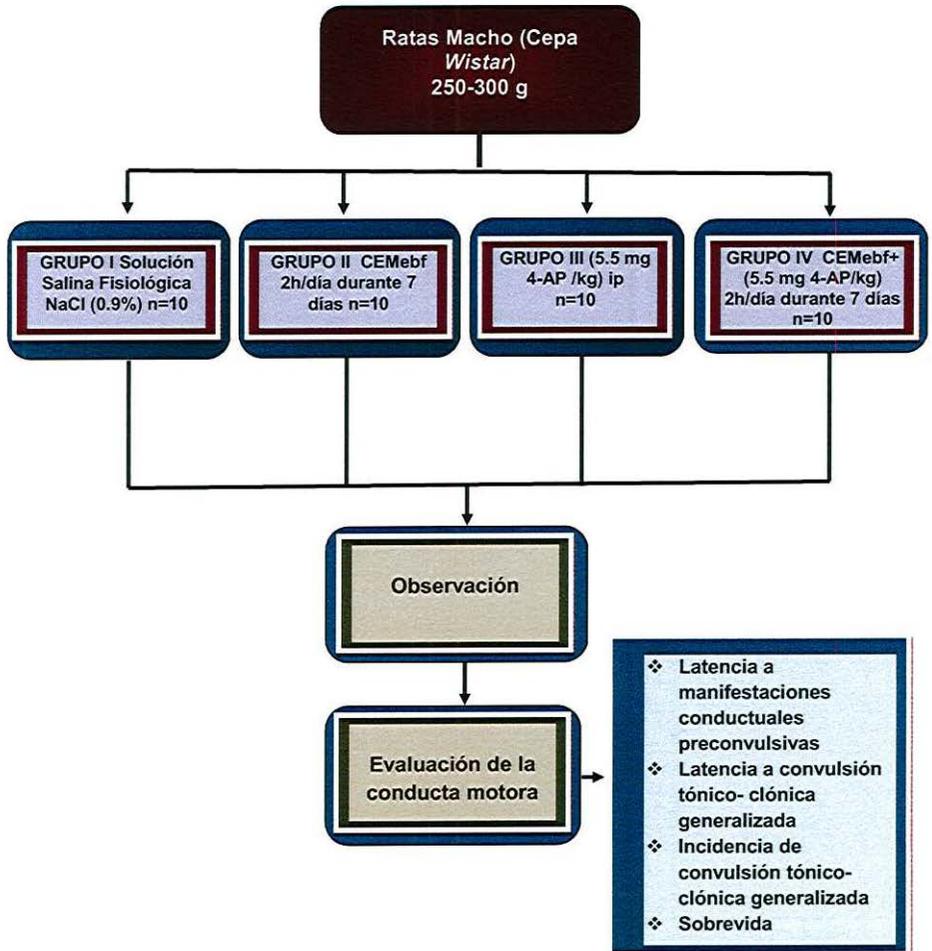
## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de estimulación de los campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia (CEMebf) sobre las crisis convulsivas inducidas por un agente convulsionante.

## **OBJETIVO PARTICULAR**

Caracterizar el patrón de la conducta motora de animales tratados con 4-aminopiridina como sustancia convulsionante, que previamente fueron expuestos a CEMebf.

## DIAGRAMA EXPERIMENTAL



## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas macho de la cepa *Wistar* de un peso corporal (pc) entre 250 y 300g al inicio de la aplicación de los CEMebf, las cuales se mantuvieron en condiciones de bioterio con ciclos de luz-oscuridad 12 x 12 h, con temperatura de  $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , y con libre acceso al agua y al alimento. Los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, publicada en el diario oficial de la federación el 22 de agosto de 2001 (Aluja, 2002).

### GRUPOS DE ESTUDIO

- ❖ **Grupo I.** Animales a los que se les administró solución salina fisiológica (**NaCl 0.9%**).
- ❖ **Grupo II.** Los animales que fueron sometidos a los **CEMebf** durante dos horas diarias por siete días (2h/día por 7 días).
- ❖ **Grupo III.** Animales inyectados con **4-AP** (5.5 mg/kg de peso corporal, intraperitonealmente (ip), disuelta en solución salina) (Mihály y col., 2001).
- ❖ **Grupo IV.** Animales tratados con **CEMebf+4-AP** (5.5 mg/Kg de 4-AP (ip) 1 h después de la estimulación de los CEMebf).

Se les observó en parejas, los animales fueron colocados en cajas de plástico transparente (Fig. 2) y los parámetros conductuales evaluados fueron los siguientes (Feria-Velasco y col., 1995, 2006):

### PARÁMETROS CONDUCTUALES EVALUADOS

**Latencia a Manifestaciones Conductuales Preconvulsivas.** El tiempo que transcurrió desde la inyección de 4-AP, a la aparición de manifestaciones

motoras tales como clonos faciales, clonos de extremidades delanteras y temblor general.

**Latencia a Convulsión Tónico-Clónica Generalizada.** El tiempo que transcurrió desde la inyección de 4-AP, hasta que se observó la primera convulsión tónico-clónica generalizada.

**Incidencia de Convulsión Tónico-Clónica Generalizada.** El número de animales que presentaron 1, 2, 3 o 4 episodios convulsivos (CTCG) en el lapso de 2 horas de evaluación conductual.

**Sobrevida.** Número de animales del grupo 4-AP y grupo CEMebf+4-AP, que sobrevivieron y murieron, en los primeros 60 minutos después de la administración de 4-AP.



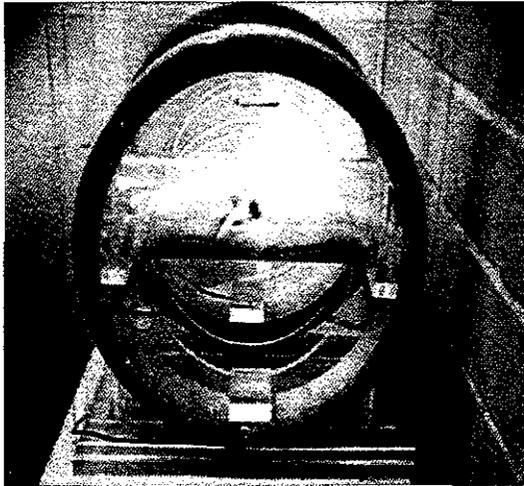
**Figura 2.** Colocación de los animales para su evaluación conductual. Permanecieron en parejas, en cajas plásticas de acrílico (43 cm x 33 cm x20 cm), para su observación. Los animales marcados en color azul corresponden al grupo de CEMebf+4-AP y los animales sin marca pertenecen al grupo 4-AP.

## REACTIVOS UTILIZADOS

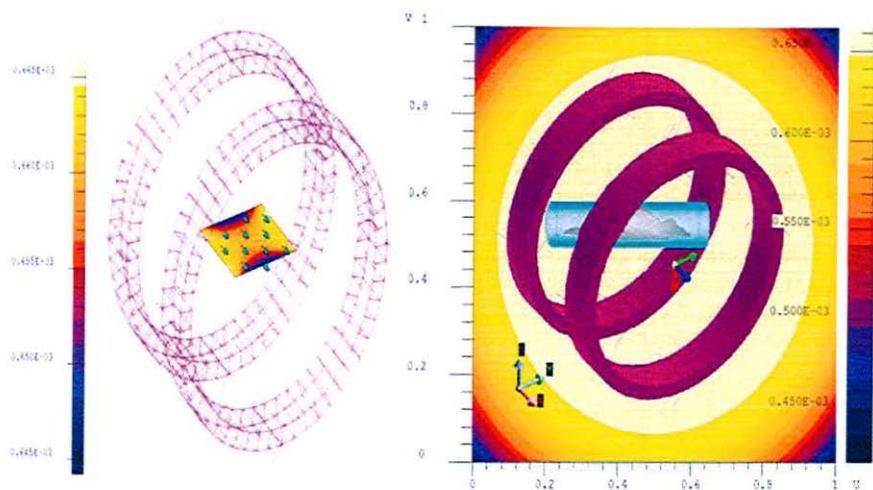
Los reactivos utilizados durante el desarrollo del trabajo experimental fueron los siguientes: 4-Aminopyridine 98% Aldrich. Solución Cloruro de Sodio (NaCl) solución inyectable 0.9% CS PiSA.

## EQUIPO

Los CEMebf se generaron mediante un par de bobinas Helmholtz que generan un campo electromagnético con una densidad de flujo de 0.66 mT y una frecuencia de 120 Hz, con 82 voltios en la bobina y 72% de voltaje en línea. Las bobinas tienen un diámetro interno de 30 cm, con un espacio entre bobinas de 15 cm (Fig. 4). Los animales fueron colocados en pares dentro de una cápsula plástica (29 cm x 10 cm x 10cm) al centro de las bobinas, como se muestra en la (Fig. 3)



**Figura 3.** Colocación de los animales en las bobinas Helmholtz, esquema en donde se muestra la forma en que se colocaron los animales del grupo experimental dentro del equipo que generó los CEMebf.



**Figura 4.** Diagramas que muestran la densidad de flujo para las bobinas Helmholtz que se utilizaron para realizar este estudio. Tomado de Gutiérrez-Mercado, 2009.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos se analizaron con la prueba de análisis de varianza de una vía (ANOVA) utilizando el programa computacional statgraphics plus ver.4.0 aceptando en cada uno de los análisis un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

### ALTERACIONES EN LA CONDUCTA MOTORA, CONVULSIONES INDUCIDAS POR 4-AP.

Los animales del grupo I tratados con inyección ip (NaCl 0.9%) y del grupo II sometidos a los CEMebf, mostraron las conductas típicas de su especie, sin manifestar en ningún caso conducta convulsiva o alteraciones motoras.

**Grupo I.** Los animales control, manifestaron respuestas motoras asociadas a la inyección y a la manipulación, como acicalamiento de la zona de inyección, de la cabeza, acicalamiento facial, actividad exploratoria y olfateo por periodos cortos.

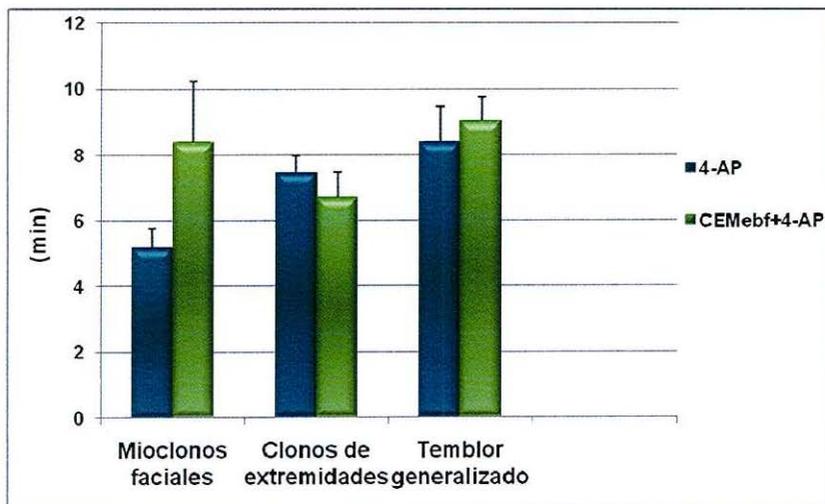
**Grupo II.** Los animales de este grupo permanecieron postrados en la caja plástica, manifestando solo acicalamiento: de la cabeza, facial y del cuerpo.

**Grupo III.** Se presentó hiperexcitabilidad conductual; inicialmente, el animal mostró conductas preconvulsivas como fueron mioclonos faciales (clonos de ojos, movimientos masticatorios, clonos de orejas, movimiento de vibrisas y sacudidas de cabeza), clonos de las extremidades delanteras, temblor generalizado, pérdida de la postura, carreras alocadas, seguido de una o dos CTCG, que finalizaron con la muerte del 70% de los animales durante la primera CTCG.

**Grupo IV.** La hiperexcitabilidad de los animales fue evidente, mostrando mioclonos faciales, clonos de las extremidades delanteras, agudizándose el temblor general hasta la pérdida de la postura, seguida por la convulsión tónico-clónica generalizada. Sin embargo, a diferencia del grupo 4-AP, los animales de este grupo resistieron mayor número de episodios convulsivos y sólo el 10% murió durante la primera CTCG.

## LATENCIA A MANIFESTACIONES CONDUCTUALES PRECONVULSIVAS

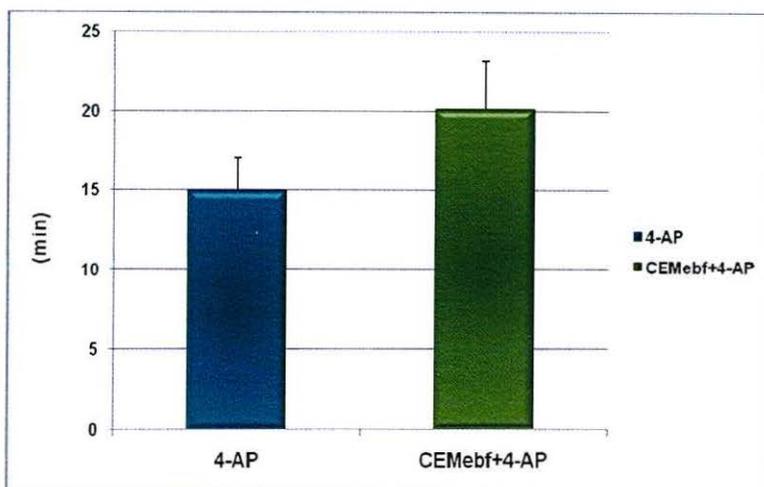
La aplicación de los CEMebf no produjo un cambio estadísticamente significativo en las conductas preconvulsivas evaluadas, sin embargo donde se presentó una tendencia a retrasar la aparición de mioclonos faciales y temblor generalizado fue en el grupo **CEMebf+4-AP** (Fig. 5).



**Figura 5.** Latencia en min a manifestaciones conductuales preconvulsivas inducidas por la administración ip de 4-AP. Los datos representan el promedio  $\pm$  el EEM de 10 animales por grupo.

## LATENCIA A CONVULSIÓN TÓNICO-CLÓNICA GENERALIZADA.

La aplicación de **CEMebf** no produjo un cambio estadísticamente significativo en la latencia a convulsión tónico-clónica generalizada (CTCG), sin embargo la tendencia a retrasar la aparición de la convulsión tónico-clónica generalizada en el grupo **CEMebf+4-AP**, fue evidente (Fig.6).



**Figura 6.** Latencia en min a convulsión tónico-clónica inducida por la administración ip de 4-AP. Los datos representan el promedio  $\pm$  el EEM, de 10 animales por grupo.

### INCIDENCIA A CONVULSIÓN TÓNICO-CLÓNICA GENERALIZADA

La incidencia de CTCG en el grupo 4-AP fue de 1 episodio para el 70% de los animales y de 2 episodios para el resto. En tanto que en el grupo CEMebf+4-AP el 90% de los animales llegaron a presentar más de 1 CTCG (Cuadro III).

<b>CUADRO III. INCIDENCIA A CONVULSIÓN TÓNICO-CLÓNICA GENERALIZADA</b>					
		1 CTCG	2 CTCG	3 CTCG	4 CTCG
4-AP	Animales	7	3		
CEMebf+4-AP	Animales	1	6	2	1

Incidenia a convulsión tónico-clónica generalizada. Las cifras representan el número de animales que presentaron 1, 2, 3 o 4 episodios.

## **SOBREVIDA**

El aumento en el número de CTCG observado en el grupo CEMebf+4-AP, lo relacionamos con un aumento en la resistencia de los animales a dichos eventos convulsivos, debido a que en el grupo 4-AP el 90% de los animales murió durante la primera o segunda CTCG, en tanto que la aplicación de los CEMebf hizo que el 50% de los animales sobrevivieran a la segunda CTCG, llegando a presentar hasta 4 episodios (Cuadro IV).

<b>CUADRO IV. SOBREVIDA</b>			
<b>4-AP</b>		<b>CEMebf+4-AP</b>	
<b>Murió</b>	<b>Sobrevivió</b>	<b>Murió</b>	<b>Sobrevivió</b>
<b>9</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

Número de animales del grupo 4-AP y grupo CEMebf+4AP, que sobrevivieron y murieron en los primeros 60 minutos después de la administración de 4-AP.

## DISCUSIÓN

El uso de campos electromagnéticos para el tratamiento de la epilepsia en los últimos años se ha planteado como una posible alternativa coadyuvante en los esquemas terapéuticos; los reportes clínicos expresan la reducción de la actividad epileptiforme después del tratamiento con estimulación rTMS y con la aplicación de campos electromagnéticos de baja frecuencia (Joo y col., 2007). Investigaciones de laboratorio en que particularmente se ha trabajado con modelos animales, sugieren que el uso de CEM podría ser una herramienta para continuar con el desarrollo de nuevas modalidades para el tratamiento de la epilepsia. La exposición de ratas a 60 Hz, disminuye las crisis y la mortalidad producida por pentilinetetrazol (Ossenkopp y Cain, 1991). Sin embargo, otros trabajos experimentales donde animales expuestos a campos electromagnéticos 0.1 mT 50 Hz, muestran una disminución de la síntesis de melatonina, en el modelo de crisis inducidas con "Kindling" (McLean y col., 2001). Otros estudios donde se evaluó el efecto de fenitoina en ratones con crisis audiogénicas, la incidencia de extensión tónica de las extremidades y muerte disminuyeron después del tratamiento con fenitoina y CEM, donde el pretratamiento en un rango de 5-10 mT reduce la severidad y la incidencia de ciertas crisis (McLean y col., 2003, 2008) por lo que podría ser posible la existencia de un efecto farmacocinético así como la participación de mecanismos físicos de transducción, de canales iónicos específicos y posibles vías de señalización intracelular, los cuales necesitan ser explorados.

En el presente trabajo se observó que la exposición de ratas adultas a CEMebf, tiende a aumentar la latencia a crisis convulsivas subsecuentes, inducidas por la administración de 4-AP. Además dicha exposición eleva la resistencia a las CTCG, observándose en el grupo CEMebf que un 50% de los animales sobrevivieron a la segunda CTCG, llegando a presentar hasta 4 episodios convulsivos.

La 4-AP es una sustancia que facilita la salida de potasio y la entrada de calcio en células excitables, con aumento en la liberación de algunos neurotransmisores (Thesleff, 1980; Brown y Sawage, 1981; Rogawski y Barker, 1983; Harsing, 2006). A dosis elevadas, produce latencias muy cortas (Mihály y col., 1990), por lo que en el presente trabajo se empleó la dosis de 5.5 mg/kg, donde se pudo identificar con claridad, el período de latencia a fenómenos tempranos de hiperexcitabilidad cerebral y a las crisis convulsivas, así como la incidencia a presentar episodios convulsivos y la sobrevida de los animales expuestos a campos electromagnéticos de muy baja frecuencia.

Observándose un alargamiento en la latencia a manifestaciones de hiperexcitabilidad cerebral representadas por movimientos no dirigidos, mioclonos faciales, temblor generalizado y clonos de extremidades delanteras. Así como el incremento del periodo de latencia para el inicio de las crisis convulsivas tónico-clónicas, en los animales expuestos a campos electromagnéticos y posteriormente inyectados con 4-AP.

El número de animales que sobrevivieron a las convulsiones tónico-clónicas generalizadas se elevó en el grupo de animales expuestos a CEMebf e inyectados con 4-AP, debido a que a la dosis de 5.5 mg/kg de 4-AP, las crisis son severas y mueren más animales en el lapso de una hora después de la administración de 4-AP, sin que hayan sido estimulados con CEMebf previamente. Los mecanismos que expliquen los resultados registrados en el presente trabajo no están completamente definidos; sin embargo, concuerdan con datos comunicados por otros autores en modelos experimentales de inducción de condiciones de hiperexcitabilidad cerebral (McLean y col., 2001; Canseven y col., 2006) y con lo observado en algunos grupos de pacientes con crisis epilépticas y sometidos a estimulación eléctrica transcraneal repetida (Joo y col., 2007).

En estudios realizados en rebanadas de corteza cerebral, se ha observado que la aplicación de CEM de extremada baja frecuencia inducen una disminución en la actividad sináptica de base, con disminución de la amplitud de los potenciales evocados y aumento de la facilitación sináptica (McLean y col., 2001; Varró y col., 2009). Estos fenómenos, junto con los que involucran la participación de la melatonina reportada por algunos autores explican en parte, los efectos comunicados de los CEM; sin embargo, aun no está claramente definido su mecanismo de acción y se requiere de más investigación al respecto.

En relación con el papel que pueda jugar la melatonina en estos procesos, tanto en animales de laboratorio, como en humanos, se ha tratado de explicar que la eficacia anticonvulsionante de los CEM se pudiera explicar en parte, por un aumento en la producción de melatonina por la glándula pineal (Sandyk y col., 1991), por la amplia gama de efectos neuroendocrinos y a nivel celular que tiene la melatonina. Por otro lado, la inyección intraventricular de anticuerpos antimelatonina produce anormalidades epileptiformes en la zona vecina al sitio de aplicación, que se disminuye mediante la estimulación con CEM (Fariello y col., 1977).

Entre los factores que expliquen los efectos que los CEM tienen en relación a las crisis convulsivas originadas por los efectos de la 4-AP, se pueden considerar los presentes a nivel tisular, celular y subcelular. Se pueden considerar lo demostrado en el terreno capilar cerebral y su permeabilidad a sustancias no liposolubles (Gutiérrez-Mercado., 2009; Feria-Velasco y col., 2009), mientras que a nivel celular y subcelular, se tiene lo comunicado por diferentes autores sobre las modificaciones en el movimiento y flujo de iones calcio producidas por aplicación de CEMebf en preparaciones celulares y subcelulares (Nordén y col., 1992), así como los efectos en la liberación de citocinas y otro tipo de sustancias en el parénquima cerebral, entre las que se tienen algunos neuromoduladores y neurotransmisores (Wilson y col., 1999; Klimovskaia y Maslova., 1982).

## CONCLUSIÓN

La aplicación de CEMebf (2h x 7 días) elevó la resistencia de los animales a las crisis convulsivas inducidas por la administración intraperitoneal de 4-AP (5.5 mg/kg de pc). Las bases fundamentales del efecto de los campos electromagnéticos en las crisis convulsivas, aún no están bien establecidas. Con los datos del presente estudio no se puede explicar el mecanismo de acción de los CEMebf y se requiere de más estudios sistematizados e interdisciplinarios, que contribuyan a la explicación de los fenómenos aquí comunicados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alemán-Alemán V, Martínez de Muñoz D (1983) Effect of different convulsant drugson some seizure parameters in morphine dependent mice. *Exp Neurol*. 80:451-456.

Aluja AS (2002) Animales de laboratorio y la norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO-1999) *Gac Méd Méx* 138(3):295-299

Arias-Carrión O, Verdugo-Díaz L, Feria-Velasco A, Millán-Aldaco D, Gutiérrez A A, Hernández-Cruz A, Drucker-Colín R (2004) Neurogenesis in the subventricular zone following transcranial magnetic field stimulation and nigrostriatal lesions. *J Neurosci Res* 78:16-28.

Avoli M, Psarropoulou C, Tancredi V, Fueta Y (1993) On the synchronous activity induced by 4-aminopyridine in the CA3 subfield of juvenile rat hippocampus. *J Neurophysiol* 70(3):1018-1029.

Ben-Ari Y, Lagowska J, Tremblay E, Le Gal La Salle G (1979) A new model of focal status epilepticus: intra-amygdaloid application of kainic acid elicits repetitive secondarily generalized convulsive seizures. *Brain Res* 9; 163(1):176-9.

Brown WC, Sawage AC (1981) Pharmacological actions of aminopyridines and related compounds. *Pure Appl Pharmacol Sci* 2: 317-371.

Brückner, Heinemann U (2000) Effects of standard anticonvulsant drugs on different patterns of epileptiform discharges induced by 4-aminopyridine in combined entorhinal cortex-hippocampal slices. *Brain Res* 859:15-20.

Cabal C, Otero G, Acuna J (2005) Informe sobre campos electromagnéticos y Salud Humana. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay Pp 5-10.

Canseven AG, Keskil ZA, Keskil S, Seyhan N (2007) Pentilenetetrazol-induced seizures are not altered by pre – or post- drug exposure to a 50 Hz magnetic field. *Int. J. Radiat Biol* 83:231-235.

Cañedo-Dorantes L, García-Cantu R, Barrera R, Méndez-Ramírez I, Navarro VH, Serrano G (2002) Healing of Chronic Arterial and Venous Leg Ulcers With Systemic Electromagnetic Fields. *Arch Med Res* 33:281-289.

Carod-Artal FJ (2009) Tropical causes of epilepsy. *Rev Neurol* 49:475-482.

Contreras CM, González-Estrada T, Zarabozo D, Fernández-Guardiola A (1979) Seizures produced by toluene or benzene intoxication in the cat. *Electroenceph clin Neurophysiol* 46:290-301.

Delle MS, Alessandro R, Lorio R, Gualtieri G, Colonna R (2008) Extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EMFs) induce in vitro angiogenesis process in human endothelial cells. *Bioelectromagnetics* 29:640-648.

Emson PC, Joseph MH (1975) Neurochemical and morphological changes during the development of cobalt-induced epilepsy in the rat. *Brain Res* 93(1):91-110

Engel JJr (2001) A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with Epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 42(6):796-803.

Donald BS (1984) *Neurofisiología*. Edit Limusa. Pp 25.

Fariello RG (1976) Parenteral penicillin in rats: an experimental model of multifocal epilepsy. *Epilepsia* 17(2):217-22.

Fariello RG, Bubenik GA, Brown G, Grota LJ (1977) Epileptogenic actions of intraventricularly injected antimelatonin antibody. *Neurology* 27:619-626.

Feria-Velasco A, Feria-Cuevas Y, Gutiérrez-Padilla R (1995) Chronobiological Variations in the convulsive effect of monosodium L-glutamate when administered to adult rats. *Arch Med Res* 26:S127- S132.

Feria-Velasco A, Martínez de Muñoz D, Rubio-Donnadieu F (1986) Epilepsia un enfoque multidisciplinario. "Modelos experimentales de epilepsia" Edit Trillas. Pp 74-97.

Feria-Velasco A, Martínez de Muñoz D, Rubio-Donnadieu F (1997) Epilepsia. Aspectos neurobiológicos médicos y sociales. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Departamento de Publicaciones Científicas.

Feria-Velasco A, Gutiérrez-Mercado Y.K, Serrano G, Cañedo-Dorantes L, Gómez-Pinedo U. (2009) Low frequency electromagnetic fields and their effects on the biology of the central nervous system. *Research Signpost*. Pp 189-200.

Feria-Velasco A, Orozco-Suárez S, Cárabez-Torres J, del Angel AR, Beas-Zárate C (2006) La desnutrición crónica en ratas causada por alimentación a base de maíz aumenta la susceptibilidad a convulsiones experimentalmente inducidas por la administración de L-glutamato monosódico. *Arch Neurocienc* 11:68-76.

Feria-Velasco A, Castillo-Medina S, Verdugo-Díaz L, Castellanos E, Orozco-Suárez S, Sánchez-Gómez C, Drucker-Colín R (1998) Neuronal Differentiation of chromaffin cells *in vitro*, induced by extremely low frequency a histological and ultrastructural comparative study. *J Neurosci Res* 53:569-582.

García PF (1997) La epilepsia como problema de salud pública. En: Feria-Velasco A, Muñoz de Martínez D, Rubio-Donnadieu F (Eds) *Epilepsia. Aspectos neurobiológicos, médicos y sociales*. Cap 19; Cognos Editores, México; pp 402-414.

Goodman R, Chizmadzhev Y, Shirley-Henderson A (1993) Electromagnetic field and cells. *J Cel Biochem* 51:436-44.

Glover WE (1982) The aminopyridines. *Gen Pharmacol* 13:259:285.

Gutiérrez-Mercado YK (2009) Efecto de los campos electromagnéticos de extremada baja frecuencia en los capilares sanguíneos de los órganos circunventriculares en cerebro de rata adulta. Tesis de Doctorado en Ciencias, Posgrado en Neurociencias. Centro Universitario de ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.

Harsing Jr. LG (2006) The Pharmacology of the Neurochemical Transmission in the midbrain Raphe Nuclei of the Rat. *Current Neuropharmacol* 4:313-339.

Haut SR, Veliskova J, Moshe SL (2004) Susceptibility of immature and adult brains to seizure effects. *Lancet Neurol* 3:608-617.

Hilderbrand JK, Peterson GP, Rothman SM (2007) Development of phase change heat spreader for treatment of intractable neocortical epilepsy. *Heat transfer Engineering* 28:282-291.

Joo EY, Han SJ, Chung SH, Cho JW (2007) Antiepileptic effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation by different stimulation durations and locations. *Clinical Neurophysiol* 118: 702-708.

Kandel ER, Swchwartz JH, Jessel TM (2001) *Fundamento de Biología celular y molecular principios de neurociencias*. 4ta ed. McGraw Hill Interamericana. Pp 333-336.

Kenney RA, Tidball CS (1972) Human susceptibility to oral monosodium L-glutamate. *Am J. Clin Nutr* 25:140-146.

Killam KF, Killam EK, Naquet R (1967) An animal model of light sensitive epilepsy. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 22:497-513.

Klimovskaia LD, Maslova AF (1982) Effect of long-term exposure to a high-intensity permanent magnetic field on the activity of body adrenergic and cholinergic systems. *Kosmecheskaia Biologiia I Aviakosmicheskaia Meditsina* 16 (6):71-74.

Kobayashi K, Nishizaa Y, Sawada K, Ogura H, Miyabe M (2008) K<sup>+</sup>-Channel openers suppress epileptiform activities induced by 4-Aminopyridine in cultured rat hippocampal neurons. *J Pharmacol Sci* 108:517-528.

Kuschinsky W, Wahl M (1979) Perivascular pH and pial arterial diameter during bicuculline induced seizures in cats. *Pflugers Arch.* 382(1):81-5.

Lazarova M, Roussinov K (1979) On some relationships between dopaminergic and serotonergic mechanisms in pentylenetetrazol convulsions in albino mice. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 5(3):67-74.

Legros A, Beuter A (2006) Individual subject sensitivity to extremely low frequency magnetic field. *Neurotoxicology* 27:534-546.

Lockard JS, Uhler V, DuCharme LL, Farquhar JA, Huntsman BJ (1975) Efficacy of standard anticonvulsants in monkey model with spontaneous motor seizures. *Epilepsia.* 16(2):301-17.

Loskota WJ, Lomax P (1975) The Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) as a model for the study of the epilepsies: EEG records of seizures. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 38(6):597-604.

Markov M. (2007) Magnetic field therapy: a review. *Electromagnetic Biol y Med* 26:1-23.

McLean M, Engstrom S, Holcomb R (2001) Magnetic field therapy for epilepsy. *Epilepsy and Behav* 2: S81-S87.

McLean JM, Engstrom, Holcomb RR, Sanchez D (2003) A static magnetic field modulates severity of audiogenic seizures and anticonvulsant effects of phenytoin in DBA/2 mice. *Epilepsy Res* 55:105-116.

McLean JM, Engstrom S, Quinkun Z, Spankovich C, Polley D (2008) Effects of a static magnetic field on audiogenic seizures in black swiss mice. *Epilepsy Res* 80:119-13.

Medina-Ceja L, Morales-Villagrán A, Tapia R (2000) Action of 4-aminopyridine on extracellular amino acids in hippocampus and entorhinal cortex: A dual

microdialysis and electroencephalographic study in awake rats. *Brain Res* 53:255-262.

Medina-Ceja L, Cordero-Romero A, Morales-Villagrán A (2008) Antiepileptic effect of carbenoxolone on seizures induced by 4-aminopyridine: A study in the rat hippocampus and entorhinal cortex. *Brain Res* 1187:74-81.

Mihály A, Bencsik K, Solymosi T (1990) naltrexone potentiates 4-aminopyridine seizures in the rat. *J Neural Transm* 79:59-67  
Mihály A, Szakács R, Bohata C, Dobó E, Krisztin-Péva B (2001) Time-dependent distribution and neuronal localization of c-fos protein in the rat hippocampus following 4-aminopyridine seizures. *Epilepsy Res* 44:97-108.

Morales-Chacón LM, Trápaga-Quincoses O (2010) Diagnóstico electroclínico e imagenológico de las epilepsias. Tópicos de actualización en neurobiología. Excitotoxicidad y cognición en enfermedades neurodegenerativas: Aspectos básicos, clínicos y sociales. Pp 189.

Morales-Villagrán A, Tapia R (1996) Preferential stimulation of glutamate release by 4-aminopyridine in rat striatum *in vivo*. *Neurochem Int* 28:35-40.

Morales-Villagrán A, Ureña-Guerrero ME, Tapia R (1996) Protection by NMDA receptor antagonist against seizures induced by intracerebral administration of 4-aminopyridine. *Eur J Pharmacol* 305:87-93.

Niittykoski M, Nissinen J, Petonnen M, Pitkanen A (2004) Electrophysiologic changes in the lateral and basal amygdaloid nuclei in temporal lobe epilepsy: an *in vitro* study in epileptic rats. *Neuroscience* 124:269-281.

Nordén B, Ramel C (1992) Interaction mechanisms of low-level electromagnetic fields in living systems. Oxford University Press, 293 pag.

Ossenkopp KP, Cain DP (1991) Inhibitory effects of powerline-frequency (60-HZ) magnetic fields on pentilene-tetrazol-induced seizures and mortality in rats. *Behav Brain Res* 44:211-216.

Pasantés-Morales H, Arzate ME (1981) Effect of taurine on seizures induced by 4-aminopyridine. *J Neuroscience Res* 6(4):465-74.

Peña F, Tapia R (1999) Relationships among seizures, extracellular amino acid changes, and neurodegeneration induced by 4-aminopyridine in rat hippocampus: a microdialysis and electroencephalographic study. *J Neurochem* 72:2006-2014.

Peña F, 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.

Rogawski MA, Barker JL (1983) Effects of 4-aminopyridine on calcium action potentials and calcium currente Ander voltaje clamp in spinal neuron. *Brain Res* 280(1):180-185.

Rosenblueth A, Cannon WB (1942) Cortical responses to electrical stimulation. *Amer J Physiol* 135:690-741.

Sandyk R, Anninos PA, Tsagas N, Derpapas K (1991) Pineal calcification and anticonvulsant responsiveness to artificial magnetic stimulation in epileptic patients. *Intern J Neuroscience* 60:173-175.

Schrader LM, Stern JM, Fields TA, Nuwer RM, Wilson LC (2005) A lack of effect from transcranial magnetic stimulation (TMS) on the vagus nerve stimulator (VNS). *Clinical Neurophysiology* 116: 2501-2504.

Seyhan N, Gulnihal CA (2006) In vivo effects of ELF MFs on collagen synthesis, free radical processes, natural antioxidant system, respiratory burst system, immune system activities, and electrolytes in the skin, plasma, lung, kidney, and brain tissues. *Electromagn Biol Med* 25:291-305.

Siequel GJ, Agranoff BW, Albers WR, Fisher SK, Uhler MD (1999) *Neurochemistry (molecular, cellular and medical aspects)* Lippincot Williams e Wilkins. 6 ed. Pp 315-335.

Stasiukyniene V, Pilvinis V, Reingardiene D, Janauskaite L (2009) Epileptic seizures in critically ill patients. *Med (Kaunas)* 45:501-517.

Swinyard AE (1972) Electrically induced convulsions experimental models of epilepsy. Nueva York, Raven Press. Pp 347-372.

Tapia R, Meza-Ruiz G, Durán L, Drucker-Colín RR (1976) Convulsions or flaccid paralysis induced by ruthenium red depending on route of administration. *Brain Res* 116:101-109.

Thesleff S (1980) Aminopyridines and synaptic transmission. *Neuroscience* 5:1413-1419.

Tipler PA, Mosca G (2005) *Física para la ciencia y la tecnología. Edición 5ª vol. 2a. ed. Reverte.* Pp 793-830.

Thomas J (1990) Gender difference in susceptibility to picrotoxin induced seizures is seizure and stimulation dependent. *Brain Res* 24:7-10.

Thomas NS, Gilbert HG (1985) A review of mouse mutants as genetic models of epilepsy. *Epilepsia* 26:143-150.

Ureña-Guerrero ME (1994) Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología. Evaluación conductual del efecto protector de los antagonistas del receptor NMDA (N-Metil-D-Aspartato) en las crisis convulsivas inducidas por 4-AP (4-amino piridina). Universidad de Guadalajara.

Varró P, Szemerszky R, Bárdos G, Világi I (2009) Changes in synaptic efficacy and seizure susceptibility in rat brain slices following extremely low-frequency electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* 30(8):631-40.

Versteeg DH, Heemskerk FM, Spierenburg HA, de Graan PN, Schrama LH (1995) 4-Aminopyridine differentially affects the spontaneous release of radiolabelled transmitters from rat brain slices *in vitro*. *Brain Res* 686:233-238.

Wilson BW, Matt KS, Morris JE, Sasser L, Miler DL, Anderson LE (1999) Effects of 60 Hz magnetic field exposure on the pineal and hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the Siberian hamster (*Phodopus sungorus*). *Bioelectromagnetics* 20 (4):224-232.

Yan G, Shao-Yu G, Di-Yun R (2004) Effect of 4-aminopyridine on synaptic transmission in rat hippocampal slices. *Brain Res* 1006:225-232.

Yusta IA. (2005) Crisis convulsivas. Concepto, clasificación y etiología. *Emergencias* 17:S68-73.

TESIS/OUUBA