



REVISIÓN

Modelos experimentales en epilepsia

M. E. García García*, I. García Morales y J. Matías Guiu

Instituto de Neurociencias, Servicio de Neurología, Hospital Clínico San Carlos, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

Recibido el 9 de marzo de 2009; aceptado el 16 de marzo de 2009

PALABRAS CLAVE

Epilepsia;
Modelos
experimentales;
Crisis epiléptica;
Epileptogénesis

Resumen

Introducción: La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas más frecuentes, y además conlleva una tasa de consecuencias negativas muy importante, tanto para el paciente como para los familiares. Su manifestación clínica principal es la aparición de crisis epilépticas recurrentes, que en el 70-80% de los casos se controlan con la medicación. Sin embargo, a pesar de que van apareciendo nuevos fármacos para el control de las crisis, no disponemos todavía de fármacos que consigan evitar la epileptogénesis.

Método: Revisamos las publicaciones más relevantes de modelos animales experimentales en epilepsia utilizando para ello la base de datos de PubMed.

Resultados: Se han encontrado un amplio número de publicaciones sobre tipos de modelos experimentales tanto genéticos (transgénicos, genéticamente determinados) como lesionales (químicos o eléctricos), que intentan imitar los diferentes tipos de epilepsia en humanos.

Conclusiones: A pesar de que en las últimas décadas se han hecho importantes avances en el campo de la epilepsia, aún quedan muchos aspectos por dilucidar. En este sentido, los modelos experimentales pueden suponer una herramienta muy útil para el avance en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos y en la búsqueda de tratamientos eficaces.

© 2009 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mariugarcia@hotmail.com (M.E. García).

KEYWORDS

Epilepsy;
Experimental models;
Seizure;
Epileptogenesis

Experimental models in epilepsy**Abstract**

Introduction: Epilepsy is one of the neurological pathologies with the highest rate of incidence and with a significant number of negative consequences. Current pharmacological treatments have an antiepileptic effect, allowing control over 70% of the patients, but they are not able to prevent the development of epileptogenesis from occurring.

Method: We have reviewed the most relevant publications of experimental animal models with epilepsy by using the PubMed data base.

Results: We found a large number of publications related to different kinds of experimental models, both genetic (transgenic, genetically determined) and lesional which appeared to resemble the different types of human epilepsy.

Conclusions: Even though many important improvements have been accomplished in the area of epilepsy in the last decades, there are still many aspects to be clarified. In this regard, experimental models might become a very useful means for a better understanding of pathophysiological mechanisms and in the search for more efficient treatments.

© 2009 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La epilepsia es una afección cerebral que se manifiesta clínicamente, entre otros, por episodios paroxísticos recurrentes. En su última revisión la ILAE (International League Against Epilepsy) define la epilepsia como un trastorno del cerebro caracterizado por una predisposición duradera a generar crisis epilépticas y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas y sociales de esta condición¹.

Según datos de la OMS, la prevalencia actual es de 0,5-1% con una incidencia ajustada a la edad de 30-50 casos/ 100.000 habitantes y año; es más frecuente en personas menores de 20 años y en mayores de 60 años².

Las crisis epilépticas pueden ser de muy diferente tipo y reflejan la disfunción de una región de la corteza cerebral. Dependiendo del área afectada las crisis se presentarán con síntomas motores, sensoriales, autónomos o psíquicos, asociados o no a alteración de la conciencia.

El diagnóstico es fundamentalmente clínico, aunque la información que aporta la neuroimagen y la electroencefalografía son indispensables para la confirmación diagnóstica. Aproximadamente un 30% de los pacientes epilépticos no se controlan con medicación, por lo que es necesario valorar otras opciones terapéuticas (estimulación del nervio vago, cirugía, dieta cetogénica, etc.)³. Además, los pacientes epilépticos, especialmente los que tienen peor control con la medicación, presentan una mayor comorbilidad, sobre todo psiquiátrica (cuadros de depresión, ansiedad, psicosis), junto con mayores dificultades laborales y sociales^{4,5}.

La alta prevalencia de la enfermedad, así como la ausencia de un tratamiento antiepileptógeno, hace necesario realizar nuevos estudios y crear modelos experimentales en animales, que nos permitan comprender los mecanismos básicos fisiopatológicos e identificar tratamientos eficaces.

Crisis epilépticas. Epileptogénesis

Las crisis epilépticas son la manifestación clínica de una alteración funcional cerebral transitoria caracterizada por una descarga anómala, excesiva y sincrónica de un grupo de neuronas. La epileptogénesis es el fenómeno por el cual una red neuronal normal se transforma en hiperexcitable y es capaz de generar crisis epilépticas de forma espontánea. La epileptogénesis puede ser genética (como en el caso de la epilepsia idiopática o primaria) o adquirida.

A lo largo de los años hemos podido observar que para que haya una adecuada comunicación neuronal es necesario un equilibrio entre las señales excitadoras e inhibitorias que reciben las neuronas, por lo que si este estado se descompensa, bien por un exceso de excitación o bien por un defecto de inhibición, el resultado es una hiperexcitabilidad neuronal que puede conducir a la aparición de crisis epilépticas, la mayoría generada en estructuras corticales, aunque algunas estructuras subcorticales, como el tálamo, pueden estar implicadas en algunos tipos de epilepsia.

Una hipótesis fisiopatológica de la epilepsia es que las alteraciones de los sistemas de inhibición son las causas principales del comienzo de las crisis, así se atribuye un papel protagonista a las interneuronas secretoras del neurotransmisor GABA (ácido gammaaminobutirílico)⁶. El modelo experimental del ratón *knock-out* para el gen DLX apoya esta teoría. La deleción de dicho gen supone una pérdida selectiva de dos subpoblaciones de interneuronas (productoras de la proteína de unión al calcio calretinina y del neuropéptido somatostatina), que da lugar a la aparición conjunta de crisis epilépticas, actividad de punta-onda y proliferación de fibras musgosas⁷.

Actualmente, las bases fisiopatológicas mejor conocidas, tanto en animales como en el ser humano, son las que generan las crisis parciales seguidas de las que generan ausencias.

Tipos de modelos experimentales

Hoy se considera modelo de animal válido aquel que es capaz de reproducir total o parcialmente una serie de características clínicas, que luego se puedan trasladar al humano o a otras especies animales.

En epilepsia tenemos modelos de epilepsia aguda y crónica. Los de epilepsia aguda se inducen por la administración de fármacos convulsivos o por estimulación eléctrica. Los de epilepsia crónica requieren de mayor cuidado, trabajo y coste económico, pero se ha comprobado que reproducen mejor la fisiopatología de la epilepsia en humanos. Ambos tipos de modelos reproducen crisis parciales y generalizadas; sin embargo, dado que la epilepsia se caracteriza por la aparición de crisis recurrentes a lo largo del tiempo, sólo los modelos que reproducen esa condición se consideran modelos de epilepsia.

Según el tipo de crisis que permiten reproducir, clasificamos los modelos experimentales:

Modelos de crisis focales

Las principales regiones del cerebro estudiadas como focos epilépticos han sido la neocorteza, el hipocampo y la amígdala, aunque hay otras zonas susceptibles, como el colículo inferior (implicado en epilepsia audiogénica) y el bulbo olfatorio⁸.

Los modelos experimentales de epilepsia focal reproducen fundamentalmente crisis focales motrices, ya que, se miológicamente, son muy parecidas entre las diferentes especies animales y son más fáciles de provocar que otros tipos de crisis focales como aquellas en que se altera la conciencia o el lenguaje.

El desarrollo de este tipo de modelos sigue tres pasos fundamentales:

- Agresión inicial: consiste en provocar una lesión con potencial para generar crisis (infartos, traumatismos craneales, estado epiléptico, etc.). Estos modelos pueden asociar en algunos casos crisis agudas sintomáticas, cuya fisiopatología se desconoce, aunque se supone que intervienen diversos factores, como cambios en la barrera hematoencefálica, liberación de excitotoxinas, como glutamato y radicales libres, y alteraciones del metabolismo energético⁹. La relación entre las crisis agudas sintomáticas y su papel en la epileptogénesis no se ha establecido todavía de forma clara.
- Periodo latente: tras el insulto inicial, se sigue una fase de latencia o de ausencia de crisis durante la cual ocurren una serie de cambios, estructurales y/o funcionales que dan lugar a una situación de hiperexcitabilidad (epileptogénesis).
- Periodo crónico: periodo de crisis recurrentes espontáneas.

Entre los modelos de crisis focales distinguimos:

Modelos de crisis parciales motrices/sensitivas

Existen diferentes modelos animales entre los que destacamos:

1. Aplicación tópica cortical de metales en la corteza sensitiva o motriz: modelo de cobalto, aluminio o derivados

férricos, entre otros. Tras un periodo de latencia de 1-2 meses, aparecen crisis caracterizadas por sacudidas contralaterales a la lesión. En la anatomía patológica se observa gliosis y alteración de las dendritas.

2. Lesiones criogénicas focales: la producción de este tipo de lesiones se ha utilizado para valorar las consecuencias de eventos neonatales. El resultado tras su aplicación en ratas recién nacidas es una lesión similar a la polimicrogiria con hiperexcitabilidad *in vitro*.
3. Aplicación tópica de sustancias convulsivas: bicuculina, penicilina, picrotoxina.
4. Estimulación eléctrica aguda.

Modelos de epilepsia temporal medial

Existen diferentes modelos experimentales para estudiar la esclerosis temporal medial; de estos el *kindling* y el modelo del estado epiléptico o *status epilepticus* van a ser los más usados. Ambos tienen en común la capacidad de inducir un estado epiléptico crónico pero difieren en el proceso de epileptogénesis:

1. Fenómeno *kindling*: consiste en la estimulación repetida, eléctrica o química, sobre diversas estructuras del sistema límbico (habitualmente amígdala, corteza e hipocampo) de modo que, con el paso del tiempo hay un aumento de la excitabilidad y las neuronas se transforman en “neuronas patológicas” capaces de generar crisis epilépticas, primero, cuando se las estimula y, posteriormente, en algunos modelos de animales, también de forma espontánea. La instauración del *kindling* es gradual y se distinguen una serie de etapas que van de 0 a 5; en esta última etapa las crisis son ya permanentes¹⁰. Se considera que el mecanismo inicial del *kindling* es la potenciación prolongada (LTP, *long term potentiation*), cuyo objetivo es conseguir que una breve descarga de frecuencia repetitiva produzca un aumento mantenido de la respuesta sináptica en el hipocampo que puede durar días o semanas. Los cambios anatómicos y bioquímicos que se observan tanto en el *kindling* como en las convulsiones repetidas o en el estado convulsivo son:

- Liberación de glutámico que activa receptores NMDA.
- Aumento del calcio intracelular que activa la proteína cinasa II dependiente de calciocalmodulina.
- Apoptosis y muerte neuronal selectiva en áreas CA1, CA3 y zona del hilus del hipocampo. La mayor susceptibilidad de estas áreas que conduce a la apoptosis se debe a dos hechos: falta de mecanismos protectores intracelulares y una mayor proporción de receptores con afinidad por aminoácidos excitatorios (glutamato y aspartato)¹¹.
- Proliferación o *sprouting* de axones de las células granulares de la fascia dentada (fibras musgosas) que establecen contacto con la capa molecular del giro dentado tanto con neuronas excitadoras como con interneuronas inhibidoras. El papel que desempeña la reinervación por las fibras musgosas en la epileptogénesis sigue en controversia, y se indica que puede tratarse más de una consecuencia que de la causa de las crisis. No obstante, existen otros estudios en los que se muestra cómo esta proliferación amplifica las descargas¹².

—Incremento de la neurogénesis en el giro dentado^{13,14}. Estas neuronas recién formadas tienen propiedades electrofisiológicas y localizaciones diferentes de las habituales, por lo que se supone intervienen en la generación de redes anormales hiperexcitables y en la aparición de nuevas crisis epilépticas^{15,16}.

2. **Modelo de estado epiléptico:** en este caso se aplican mediante una inyección sistémica o intracerebral diferentes agentes convulsivos, como el ácido kaínico y la pilocarpina. Esto da lugar a un estado epiléptico agudo con crisis tónicoclónicas generalizadas que constituye el evento inicial. Tras este episodio, aparece una fase libre de crisis o latente, que puede durar semanas, tras lo que se inician las crisis de forma espontánea y recurrente (fase crónica). Los estudios anatómicos del hipocampo de las ratas sometidas a este método muestran alteraciones muy similares a las de la esclerosis temporal medial del humano con muerte neuronal y astrogliosis en el hipocampo y amígdala¹⁷. La obtención de estos modelos experimentales nos permite no sólo ver si los cambios anatopatológicos son similares en la fase tardía, sino también analizar las modificaciones que ocurren en fases iniciales y durante la epileptogénesis.

Modelos de crisis posttraumática

Para el estudio de crisis posttraumáticas se han utilizado diferentes tipos de especies animales (ratas, gato, cobaya) provocando crisis con la inyección intracortical de sangre. Aunque se desconoce el mecanismo exacto, una de las hipótesis aceptada es que el depósito de sangre, y su posterior transformación en depósitos de hierro y derivados, lleva a la inhibición de la ATPasa de la bomba de Na^+/K^+ debido a la capacidad del hierro para unirse al ATP. El mal funcionamiento de este transportador de iones genera un cambio en la carga eléctrica de la membrana y aumenta la excitabilidad neuronal. El hierro es capaz, además, de reaccionar con los lípidos de las membranas celulares y da lugar a la aparición de radicales libres que inducen la peroxidación de los lípidos de la membrana^{18,19}.

Se supone, además, que el desarrollo de epilepsia posttraumática, al igual que otros tipos de epilepsia, podría tener un sustrato genético relacionado con el número de interneuronas inhibitorias que existan en cada individuo en función de su dotación genética y, en concreto, del número de interneuronas gabaérgicas (neuronas “en candelabro”) en la corteza cerebral y el hipocampo. Estas células en candelabro, mediante numerosas colaterales, inhiben las neuronas de proyección en la salida del axón (donde la inhibición es máxima) y, por lo tanto, se piensa que son determinantes en el desarrollo de epilepsia tanto espontánea como secundaria a lesiones cerebrales (ya que se produce una muerte neuronal preferentemente de interneuronas)^{20,21}. Por lo tanto, cuanto mayor sea el número de interneuronas en un individuo (determinado genéticamente), más se facilita la inhibición y se dificulta el desarrollo de crisis cuando se producen lesiones cerebrales.

Modelos de crisis generalizadas

Actualmente, se considera que la susceptibilidad genética está implicada en al menos un tercio de las epilepsias en

humanos. Aunque la mayoría de las epilepsias generalizadas tienen patrones de herencia complejos, algunas tienen un patrón mendeliano con mutaciones genéticas simples. Muchas de estas mutaciones se han encontrado en genes que codifican canales iónicos (canalopatías), aunque también las alteraciones genéticas pueden producir anomalías en la migración neuronal o enfermedades degenerativas donde la epilepsia es una manifestación más del síndrome, como la esclerosis tuberosa (alteración del gen de la tuberina), la enfermedad de Lafora o la enfermedad de Unverricht-Lundborg.

El mejor conocimiento de los aspectos biológicos, requerimientos ambientales y genoma del ratón, hace que éste sea la especie a partir de la cual se obtiene la mayoría de los modelos genéticos. En el estudio de las epilepsias generalizadas distinguimos dos tipos de modelos:

1. **Modelos modificados genéticamente (transgénicos):** se utilizan ratones *knock-out*, en los que se elimina un gen conocido por su intervención en la excitabilidad neuronal²². La mayoría de estos genes codifican subunidades proteínicas que forman parte de la estructura o de la función de los canales iónicos dependientes de voltaje (sodio, potasio, calcio) o de canales asociados a receptores de neurotransmisores (GABA_A, AMPA/KA y NMDA). Algunos de estos modelos son: ratones sin KCN1 (codifica para un canal de potasio y su ausencia impide la repolarización; produce crisis espontáneas e hiperexcitabilidad en el hipocampo), ratones con mutación en el gen *GBR3* (afecta a subunidades del receptor GABA_A; desarrolla crisis muy similares a las del síndrome de Angelman) o el modelo de ratón sin KCNQ2, que intenta reproducir la epilepsia benigna neonatal al tipo 1^{23,24}. El problema con los modelos transgénicos es que, por un lado, los resultados obtenidos en el laboratorio pueden dar lugar a fenotipos que presentan ciertas diferencias con la epilepsia en los humanos, lo que indica que la intervención de otros genes (el fondo genético) interviene en el fenotipo final, y por otro, que mutaciones diferentes den lugar al mismo fenotipo epiléptico.

2. **Modelos genéticamente epiléptógenos:** son animales que poseen como rasgo hereditario la capacidad de presentar crisis epilépticas. Este tipo de modelo se obtiene primero identificando el locus donde está la anomalía, posteriormente, se exploran los genes contiguos y se identifica el gen en que está la mutación y la mutación misma. Hay diferentes cepas que nos permiten estudiar distintos tipos de epilepsia: ratón *stargazer* (alteración en el gen *CAOng2*, utilizado como modelo de ausencias), ratón *lethargic* (mutación en el gen *CACNB1*, se manifiesta con reacciones de parada), ratón *tottering* (mutación en el gen *CACNA1A* produce ausencias y convulsiones), ratón *weaver*, etc.²⁵.

Entre los modelos animales que presentan crisis generalizadas tenemos:

1. **Ausencias.** Una de las especies utilizadas para el estudio de este tipo de crisis es la rata de Estrasburgo (rata *GAERS*) o el modelo de rata *WAG/Rij* de Nijmegen. Este modelo fue diseñado por Marescaux et al y presenta de

manera espontánea y constante descargas de punta onda a 7-11 Hz en el registro electroencefalográfico con características clínicas muy similares a las ausencias en adulto²⁶. Las ausencias se caracterizan por ritmos oscilatorios anormales en los circuitos talamocorticales, cuyo origen está en las neuronas gabaérgicas inhibitorias del núcleo reticular del tálamo. La capacidad de dicho núcleo para descargar está determinada por los canales de calcio tipo T, que son activados por hiperpolarización talámica, generada a su vez por potenciales postsinápticos inhibitorios que se originan en receptores GABA_B. La hipótesis de que una hiperfunción del receptor GABA_B interviene en la génesis de las ausencias se ha propuesto a partir de estudios en ratas en que se comprobó que los inhibidores del receptor de GABA_B suprimían las ausencias, mientras que los agonistas (tiagabina, vigabatrina) las exacerbaban.

2. Crisis reflejas. Son las que se producen por estímulos conocidos, tanto externos como internos. Se supone que existe una zona de la corteza cerebral con un umbral de excitabilidad disminuido y funcionalmente anómalo que, cuando se activa por un estímulo externo o interno, genera las crisis. La etiología de las crisis reflejas es muy variada, pero podemos distinguir el grupo de las lesionales y el de las genéticas²⁷. El mandril de la especie Papio papio es un primate sensible a la estimulación fótica en 20-30 Hz, de tal modo que, en respuesta a este estímulo, presenta un mioclonio reflejo facial y cervical que puede finalizar en crisis tónico-clónica generalizada. Este primate constituye un modelo de epilepsia refleja, en la que las alteraciones genéticas generan una hiperexcitabilidad de la zona cortical sensible a estímulos visuales que se convierte en la zona de origen de la actividad eléctrica inicial²⁸. La respuesta fotoparoxística (RFP) (aparición de actividad epileptiforme durante la estimulación luminosa) indica un rasgo genético subyacente de herencia multifactorial, con expresión dependiente de la edad. Uno de los genes que podrían intervenir es el codificador de la subunidad 1 A del canal de sodio (SCN1A), cuya mutación causa la epilepsia mioclónica grave de la infancia, ya que estos pacientes presentan RFP en más del 90% de los casos³². Otros genes implicados podrían ser los relacionados con las epilepsias mioclónicas progresivas, como la enfermedad de Unverricht-Lundborg (gen *EPM1*), la enfermedad de Lafora (genes *EPM2A* y *EPM2B*), aunque todavía no hay estudios que hayan podido demostrar esta relación. Un segundo modelo de interés en las epilepsias reflejas es el del ratón DBA/2 y la rata genéticamente predisposta a la epilepsia (rata GEPR). Ambos presentan crisis epilépticas ante estímulos auditivos, de modo que pueden servir como modelos experimentales de epilepsia audiogénica²⁹. Los estudios realizados en ambos modelos muestran un origen subcortical de las crisis, por lo que podrían poner de manifiesto una fisiopatología diferente de la de otras epilepsias reflejas³⁰. Entre los hallazgos publicados, hay estudios que muestran cambios morfológicos en los núcleos auditivos troncoencefálicos de algunos de estos animales³¹.

3. Crisis tónico-clónicas generalizadas. En este tipo de crisis se supone que el factor subyacente es una disminución del tono inhibidor o un aumento del tono excitador que facilita la sincronización y la propagación de la descarga.

De este modo, bien de forma espontánea o bien por estímulos fisiológicos, se inicia una descarga sincronizada en la corteza que propaga hacia el tálamo donde se amplifica hasta que llega al tronco del encéfalo y ocasiona convulsiones y rigidez generalizada. Para reproducir este tipo de crisis en animales, se administran de forma sistémica sustancias que favorecen las crisis epilépticas al disminuir el tono gabaérgico (picrotoxina) o aumentar el tono glutamárgico (ácido kaínico). En las crisis tónico-clónicas generalizadas, cuando se utiliza como marcador neuronal para valorar las zonas implicadas en las convulsiones la proteína Fos (codificada por el gen *c-Fos*, uno de los primeros en activarse tras una estimulación postsináptica), se observa una distribución difusa de la proteína en la corteza y en el hipocampo, pero no en el tálamo³³.

Modelos experimentales en estado epiléptico

Clásicamente se ha definido el *status epilepticus* (SE) como la crisis que dura más de 30 min o como la situación en que ocurren dos o más crisis sin recuperación del nivel de conciencia entre ellas. Sin embargo, recientemente, se han propuesto nuevas definiciones en las que se considera ya un SE cuando las crisis no ceden en 5 min^{34,35}. El SE supone una emergencia médica con una mortalidad del 40%³⁶.

El diseño de modelos experimentales para el SE intenta explicar los mecanismos fisiopatológicos que lo producen y las causas de los déficit neurológicos secundarios, también pretende buscar tratamientos eficaces que nos permitan disminuir su morbilidad.

Para conseguir un modelo de SE, los animales son sometidos a agentes químicos (administración sistémica de ácido kaínico o pilocarpina) o a estimulación eléctrica (en la amígdala o el hipocampo) hasta lograr un estado epiléptico. La creación de estos modelos nos ha permitido obtener las siguientes conclusiones:

- Entre los 30 y 60 min de iniciarse el estado epiléptico convulsivo empieza a haber fallo de los mecanismos homeostáticos³⁷.
- La muerte neuronal puede estar causada por un exceso de glutamato que activa receptores postsinápticos NMDA y permite la entrada masiva de calcio al interior celular y da lugar a fenómenos de excitotoxicidad³⁸.
- La muerte neuronal tras un SE no se produce de forma inmediata, por lo que hay un periodo en el que se podrían administrar fármacos neuroprotectores y evitar el daño neuronal. Con este fin se han hecho estudios en ratas a las que se administraba antagonistas del receptor NMDA (MK 801) o ácido valproico tras un SE. Se pudo comprobar que el daño en el hipocampo era menor que en los controles, pero no había modificaciones en la epileptogénesis y la aparición de crisis posteriores³⁹.
- Una vez que el SE se mantiene en el tiempo, los fármacos gabaérgicos y las benzodiacepinas serán menos eficaces que las sustancias que inhiben la neurotransmisión glutamínárgica. Esto es debido a que los fármacos gabaérgicos y las benzodiacepinas pierden su eficacia al alterarse algunas de las propiedades funcionales de receptores hipocampales GABA_A. Una de las hipótesis es la internalización de dichos

receptores en los endosomas (por lo que se inactivaría su función) y la externalización de receptores NMDA^{40,41}. —El SE induce un aumento de la expresión de proteínas transportadoras, como la P-glucoproteína (Pgp) de la barrera hematoencefálica. Dicha proteína inhibe la recaptación cerebral de muchos compuestos lipofílicos (como fenobarbital y fenitoína) por lo que su aumento se traduce en una disminución de la concentración cerebral de estos fármacos. Esta proteína aumenta a partir de las 24 h, por lo que algunos autores no consideran que tenga un papel crucial en el SE⁴². En modelos animales de *kindling* se ha comprobado que una de las alteraciones inducidas es una sobreexpresión de la Pgp, lo cual justificaría la baja respuesta que presentan al tratamiento con fármacos antiepilepticos (FAE) con diferente mecanismo de acción⁴³.

Modelos experimentales y tratamientos

Los modelos experimentales en animales también se han utilizado para valorar la eficacia y toxicidad de los nuevos tratamientos antes de someterlos a ensayos clínicos. El inconveniente de estos modelos en el estudio de la epilepsia es la diferencia entre especies (metabolismo, dificultad para valorar funciones cognitivas, principalmente) y la gran variedad de crisis epilépticas en el ser humano que hace imposible representar cada una de ellas. Entre los modelos epilépticos más utilizados para valorar los nuevos tratamientos están:

- El test de electroshock máximo (MES): consiste en aplicar un estímulo eléctrico máximo capaz de generar convulsiones. Representa un modelo de crisis agudas sensibles a compuestos que actúan modulando la actividad de los canales de sodio dependientes de voltaje como la fenitoína. Sin embargo, este test no es un modelo perfecto, ya que puede dar falsos negativos en los fármacos que tengan un mecanismo diferente, como el levetiracetam, la tiagabina o la vigabatrina.
- Test subcutáneo de pentilenetetrazol (PTZ): identifica fármacos útiles en ausencias y mioclónias. Este test está siendo cada vez menos utilizado debido a resultados contradictorios obtenidos en estos modelos con respecto al humano. Así, por ejemplo, la lamotrigina, que es una sustancia útil en ausencias, ha resultado ineficaz en este test o fármacos como la tiagabina o la vigabatrina que, tras mostrar su éxito en este modelo, han resultado inútiles o incluso capaces de empeorar las ausencias en el humano. Actualmente se considera que los modelos genéticos como la rata GAERS o el ratón *lethargic* son mejores predictores de la eficacia clínica de un compuesto frente a las ausencias que el modelo de PTZ.
- Modelo de *kindling* eléctrico: nos permite estudiar la neuroplasticidad e identifica compuestos que son útiles en la epilepsia temporal medial. Con este modelo se han evaluado fármacos como la lacosamida, que ha mostrado no sólo una actividad antiepileptica, sino también la posibilidad de retrasar la epileptogénesis inducida por *kindling*⁴⁴.

Los FAE de los que disponemos hasta ahora sirven para controlar las crisis, pero en general no hemos podido de-

mostrar claramente que sean antiepileptógenos. Hay algunos trabajos en los que, de forma aislada, se plantea la posibilidad de que ciertos FAE, como el valproico, el topiramato, el fenobarbital y, recientemente, el levetiracetam, se puedan considerar tratamientos preventivos⁴⁵⁻⁴⁸.

También las observaciones en animales han demostrado que la estimulación del nervio vago (VNS) muestra eficacia en el control de crisis inducidas eléctrica y químicamente⁴⁹. Aunque el mecanismo subyacente al efecto anticonvulsivo se desconoce, los resultados indican varios puntos de acción: menor excitabilidad cortical por la disminución de los receptores para glutamato, aumento de los receptores para GABA en el núcleo reticular del tálamo y alteración de la sincronización neuronal con frecuencias superiores a 25 Hz^{50,51}. La VNS podría tener además un efecto profiláctico en la epileptogénesis. Esto lo proponen los estudios realizados en modelos de *kindling* eléctrico amigdalino en gatos, en los que se observó que el pretratamiento con VNS causó un retraso en la generalización de la actividad convulsiva permaneciendo en los estadios iniciales del *kindling* (I-III).

Otro de los modelos diseñados ha sido el de los ratones transgénicos Tsc1^{GFAP}CKO diseñados para valorar sustancias como la rapamicina en el tratamiento de la esclerosis tuberosa.

Conclusiones

Apesar de los numerosos avances que se han llevado a cabo en el campo de la epilepsia en los últimos años, todavía quedan grandes incógnitas por aclarar. Desde este punto de vista, los modelos experimentales en animales pueden representar una herramienta muy útil tanto para dilucidar los mecanismos fisiopatológicos de la epilepsia como para identificar tratamientos, no sólo con efecto antiepileptico, sino también antiepileptógeno. Hay una gran diversidad de modelos que intentan representar los diferentes tipos de epilepsia existentes en el humano (idiopática mimetizada por modelos transgénicos, sintomática mediante la creación eléctrica o química de una lesión potencialmente convulsiva); cada uno presenta una serie de ventajas e inconvenientes, pero todavía no hemos encontrado el modelo ideal. En la actualidad, escogemos el modelo en función del diseño y la finalidad-objetivo del estudio.

Como conclusión, podemos decir, por lo tanto, que son necesarias nuevas investigaciones en epilepsia y la utilización de modelos experimentales válidos no sólo por la alta prevalencia/ incidencia de esta enfermedad, sino también por la carencia de tratamientos eficaces y por las devastadoras consecuencias que puede tener en el paciente y los familiares.

Bibliografía

1. Fisher RS, Van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005;46:470-2.
2. Hauser WA, Annegers JF, Rocca WA. Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from Rochester, Minnesota. *Mayo Clinic Proceedings*, 1996;7:576-86.

3. French JA. Refractory epilepsy: clinical overview. *Epilepsia*. 2007;48 Suppl 1:3-7.
4. Kanner AM, Balabanov A. Depression and epilepsy. How closely related are they? *Neurology*. 2002;58:227-39.
5. Kanner AM. Depression in epilepsy: a complex relation with unexpected consequences. *Curr Opin Neurol*. 2008;21:190-4.
6. De Cabo de la Vega C, Villanueva Hernandez P, Prieto Martin A. Neuroquímica de la epilepsia, neurotransmisión inhibitoria y modelos experimentales: nuevas perspectivas. *Rev Neurol*. 2006;42:159-68.
7. Cobos I, Calcagnotto ME, Vilaythong AJ, Thwin MT, Noebels JL, Barabans SC, et al. Mice lacking Dlx1 show subtype-specific loss of interneurons, reduced inhibition and epilepsy. *Nat Neurosci*. 2005;8:1059-68.
8. Sayin U, Osting S, Hagen J, Rutecki P, Sutera T. Spontaneous seizures and loss axo-axonic and axo-somatic inhibition induced by repeated brief seizures in Kindled rats. *J Neurosci*. 2003;23:2759-68.
9. Vaughan CJ, Delanty N. Pathophysiology of acute symptomatic seizures. En: Delanty N, editor. *Seizures: medical causes and management*. Totowa: Humana Press; 2002. p. 7-24.
10. Racine RJ. Modifications of seizure activity by electrical stimulation. Motor seizures. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1972;32:269-79.
11. Serrano-Castro PJ, Sánchez-Álvarez JC, García-Gómez T. Esclerosis mesial temporal (I): datos histológicos, hipótesis fisiopatológicas y factores etiológicos. *Rev Neurol*. 1997;25:584-9.
12. Nadler JV, Perr BW, Cotman CW. Selective reinnervation of hippocampal area CA1 and the fascia dentata after destruction of CA3-CA4 afferents with Kainic acid. *Brain Res*. 1980;182:1-9.
13. Auvergne R, Leré C, El Bahh B, Arthaud S, Lespinet V, Rougier A, et al. Delayed kindling epileptogenesis and increased neurogenesis in adult rats housed in an enriched environment. *Brain Res*. 2002;954:277-85.
14. Parent JM, Yu TW, Leibowitz RT, Geschwind DH, Sloviter RS, Lowenstein DH. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci*. 1997;17:3727-38.
15. Scharfman HE, Goodman JH, Sollas AL. Granule-like neurons at the hilar/CA3 border after status epilepticus and their synchrony with area CA3 pyramidal cells: functional implications of seizure-induced neurogenesis. *J Neurosci*. 2000;20:6144-58.
16. Ribak CE, Tran PH, Spigelman I, Okazaki MM, Nadler JV. Status epilepticus- induced hilar basal dendrites on rodent granule cells contribute to recurrent excitatory circuitry. *J Comp Neurol*. 2000;428:240-53.
17. Ben-Ari Y. Cell death and synaptic reorganizations produced by seizures. *Epilepsia*. 2001;42:5-7.
18. Willmore LJ. Posttraumatic epilepsy; cellular mechanisms and implications for treatment. *Epilepsia*. 1990;31 Suppl 3:S67-73.
19. Herman ST. Epilepsy after brain insult. Targeting epileptogenesis. *Neurology*. 2002;59:21-6.
20. De Felipe J. Chandeliers cells and epilepsy. *Brain*. 1999;122:1807-22.
21. De Felipe J, Arellano JL, Alonso L, Muñoz A. Neuropatología de la epilepsia del lóbulo temporal. Alteraciones primarias y secundarias de los circuitos corticales y epileptogenidad. *Rev Neurol*. 2002;34:401-8.
22. Noebels JL, Rees M, Gardiner RM. Molecular genetics and epilepsy genes. En: Engel J, Pedley TA, editores. *Epilepsy a comprehensive textbook*. Philadelphia: Lippincot-Raven; 1997. p. 211-6.
23. Singh NA, Charlier C, Stauffer D, DuPont BR, Leach RJ, Melis R, et al. A novel potassium channel gene, KCNQ2, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nat Genet*. 1998;18:25-9.
24. Wagstaff J, Knoll JHM, Fleming J, Kirkness EF, Martin Gilardo A, Greenberg F, et al. Localization of the gene encoding the GABA (A) receptor B3 subunit to the Angelman/ Prader Willi region of human chromosome 15. *AM J Hum Genet*. 1991;49:330-7.
25. Noebels JL. Single-gen models of epilepsy. En: Delgado-Escueta AV, Wilson WA, Olsen RW, Porter RJ, editores. *Jasper's basic mechanisms of the epilepsies. Advances in neurology*. Vol 79. 3.^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1999. p. 227-38.
26. Van Luijtelaar EL, Drinkenburg WH, Van Rijn OM, Coenen AM. Rat models of genetic absence epilepsy: what do EEG spike-wave discharges tell us about drug effects? *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2002;4 Suppl D:65-70.
27. Serrano-Castro PJ, Arjona A, Rubi-Callejon J, Alonso-Verdegay G, Huete-Hurtado A. Avances en el conocimiento de la etiología y de la fisiopatología de las epilepsias reflejas. *Rev Neurol*. 2006;43:745-52.
28. Menini C, Silva Barrat C. The photosensitive epilepsy of the baboon: a model of generalized reflex epilepsy. En: Zifkin B, Anderman F, Beaumanoir A, Rowan A, editores. *Reflex epilepsies and reflex seizures. Advances in Neurology*. Philadelphia: Lippincott Raven; 1998. p. 29-47.
29. Dailey JW, Reigel CE, Mishra PK, Jobe PC. Neurobiology of seizure predisposition in the genetically epilepsy-prone rat. *Epilepsia Res*. 1989;3:3-17.
30. La Gal-La Salle G, Naquet P. Audiogenic seizures evoked in DBA/2 mice induce C-fos expression into subcortical auditory nuclei. *Brain Res*. 1990;518:308-12.
31. Fuentes-Santamaría V, Cantos R, Alvarado JC, García-Atares N, López DE. Morphologic and neurochemical abnormalities in the auditory brainstem of the genetically epilepsy prone hamster. *Epilepsia*. 2005;46:1027-45.
32. Doose H, Baier W. Genetics aspects of childhood epilepsy. *Cleve Clin J Med*. 1989;56 Suppl 1: S105-10.
33. Armijo JA, Valdizan EM, De las Cuevas I, Quadrado A. Avances en la fisiopatología de la epileptogénesis: aspectos moleculares. *Rev Neurol*. 2002;34:409-29.
34. Lowenstein DH, Bleck T, Macdonald RL. It's time to revise the definition of status epilepticus. *Epilepsia*. 1999;40:120-2.
35. Teijeiro J, Gomez S. Status epileptico. *Rev Neurol*. 2003;6:661-79.
36. Young GB. Status epilepticus and refractory status epilepticus: introductory and summary statements. *Adv Neurol*. 2006;97:83-5.
37. Young GB. Status epilepticus and brain damage: pathology and pathophysiology. *Adv Neurol*. 2006;97:217-20.
38. Fujikawa DG. Prolonged seizures and cellular injury: understanding the connection. *Epilepsy Behav*. 2005;7 Suppl 3:S3-11.
39. Brandt C, Potschka H, Löscher W, Ebert U. N-methyl-D-aspartate receptor blockade after status epilepticus protects against limbic brain damage but not against epilepsy in the Kainato model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*. 2003;118:727-40.
40. Chen JW, Wasterlain CG. Status epilepticus. Pathophysiology and management in adults. *Lancet Neurol*. 2006;5:246-56.
41. Naylor DE, Liu H, Wasterlain CG. Trafficking of GABA (A) receptors, loss of inhibition, and a mechanism for pharmacoresistance in status epilepticus. *J Neurosci*. 2005;25:7724-33.
42. Löscher W, Postekka H. Drug resistance in brain disease and the role of drug efflux transporters. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6:591-602.
43. Löscher W. How to explain multidrug resistance in epilepsy? *Epilepsy Curr*. 2005;5:107-12.
44. Brandt C, Heile A, Postekka H, Stoehr T, Löscher W. Effects of the novel antiepileptic drug lacosamide on the development of amygdala Kindling in rats. *Epilepsia*. 2006;47:1803-9.

45. Sato M, Racine RJ, McIntyre DC. Kindling: Basic mechanisms and clinical validity. *Electroenceph Clin Neurophysiol*. 1999;76:459-72.
46. Silver JM, Shin C, McNamara JO. Antiepileptogenic effects of conventional anticonvulsants in the kindling model of epilepsy. *Ann Neurol*. 1991;29:356-63.
47. Wada JA. Pharmacological prophylaxis in the kindling model of epilepsy. *Arch Neurol*. 1974;34:389-95.
48. Löscher W, Donärk D, Rundfert C. Antiepileptogenic effects of the novel anticonvulsant levetiracetam in the kindling model of temporal lobe epilepsy. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;284:474-9.
49. Lockard JS, Congdon WC, Ducharme LL. Feasibility and safety of vagal stimulation in monkey model. *Epilepsia*. 1990;31:20-6.
50. Magdalena-Madrigal VM. Estimulación eléctrica del nervio vago: de lo experimental a lo clínico. *Rev Neurol*. 2004;39:971-7.
51. Zagon A, Kemeny AA. Slow hyperpolarization in cortical neurons: a possible mechanism behind vagus nerve stimulation therapy for refractory epilepsy? *Epilepsia*. 2000;41:1382-9.