

Aspectos morfológicos y experimentales de la epilepsia

Unidad de Investigación de Neurociencias
Hospital Universitario Clínica Puerta de Hierro
Madrid

Vaquero J.

INTRODUCCIÓN

Las manifestaciones epilépticas representan la forma de respuesta inespecífica de una estructura biológica determinada (el cerebro) ante diversos estímulos. Aun teniendo en cuenta esta circunstancia, es un hecho cierto que ningún otro desorden de la actividad cerebral nos ha revelado más datos acerca de la complejidad funcional del sistema nervioso.

Cuando en 1942 Kopeloff y col. estudiaban la relación existente entre la hipersensibilidad alérgica y los desórdenes convulsivos en la clínica humana, surgieron las bases para establecer un modelo de epilepsia focal crónica en animales de experimentación. Estos investigadores, ante el hecho de que las proteínas precipitadas en alúmina eran muy efectivas para la producción de anticuerpos, aplicaron clara de huevo precipitada en alúmina sobre la corteza cerebral precentral de monos, lo que provocaba crisis epilépticas en el transcurso de las semanas siguientes (Kopeloff y col., 1942). Esta línea de investigación fue seguida posteriormente por otros autores, como Chusid, y se llegó a obtener un modelo experimental de epilepsia muy parecido a la epilepsia focal humana.

A grandes rasgos, existen notables paralelismos entre ambas formas de epilepsia focal (la experimental y la humana). Así, se conoce que en ambas formas de epilepsia existe como rasgo morfológico predominante una clara despoblación neuronal y una gliosis reactiva. Neurofisiológicamente, la descarga neuronal de alta frecuencia es idéntica en focos epileptogénicos humanos y en los producidos experimentalmente. Tanto en este modelo experimental, como en el caso de la epilepsia postraumática, las manifestaciones epilépticas comienzan tras un intervalo variable tras

la lesión cerebral y pueden luego persistir indefinidamente. Además en la epilepsia experimental por alúmina, al igual que en el caso de la epilepsia humana, existe una influencia hormonal en el desencadenamiento de las crisis y además ambas formas de epilepsia pueden ser controladas con los mismos fármacos antiepilépticos. Desde el punto de vista funcional, presenta especial interés el hecho de que en la epilepsia experimental por alúmina se pueden desarrollar, tras cierto tiempo evolutivo, focos epileptógenos secundarios, autóctonos en cuanto a la descarga epiléptica que originan y que se desarrollan alejados de la zona de implantación de las partículas de alúmina, preferentemente en la corteza cerebral contralateral y homotópica. El estudio de estos focos secundarios ofrece además la posibilidad de estudiar las posibles alteraciones morfológicas relacionadas con la epilepsia focal, sin artefactos atribuibles al daño quirúrgico provocado por la implantación de las partículas de alúmina (Vaquero y col., 1977, 1978).

MODELO EXPERIMENTAL DE EPILEPSIA FOCAL

El modelo experimental que nos vamos a referir ha sido ampliamente utilizado por Kopeloff y por Ward y la experiencia que hemos obtenido con él fue consecuencia de una serie de estudios realizados por el doctor Manrique entre los años 1975 y 1980 y en los cuales colaboramos. En este modelo se procede a localizar por medio de un sistema estereotáxico la zona motora del cerebro del animal (giro sigmoides) y a ese nivel se implanta una pequeña cantidad de gel de hidróxido de aluminio (0,1 cc). Posteriormente se colocan

electrodos profundos de registro neurofisiológico, según la técnica descrita por Rodríguez Delgado. Estos electrodos tienen varios contactos, de 1 mm de longitud cada uno de ellos, y separados también 1 mm entre ellos. Por lo general, colocábamos un electrodo en la zona de implantación del gel de aluminio y otro en la zona motora contralateral, al objeto de poder registrar los posibles focos en espejo. Los electrodos y los microenchufes se fijaban al cráneo del animal con cemento acrílico y permitían, ya con el gato en su jaula, registrar la aparición y propagación de crisis epilépticas, ya sean espontáneas o provocadas por la administración intraperitoneal de pentilentetrazol. Con este modelo es fácil detectar la aparición espontánea de crisis en el curso de las primeras cuatro semanas o bien se pueden provocar por medio de la administración de pentilentetrazol, a dosis incapaz de provocar crisis en animales control. Tras un cierto período de tiempo evolutivo, los animales fueron sacrificados y se procedió a la perfusión del cerebro con el objeto de correlacionar alteraciones morfológicas con los diferentes patrones neurofisiológicos registrados en la profundidad cerebral, ya sea en la vecindad de las partículas de hidróxido de aluminio o en focos epilépticos desarrollados en la corteza motora contralateral (focos especulares). Un modelo similar es el de epilepsia provocada por la implantación cortical de cobalto-gelatina, que lleva a la aparición de puntas en el registro estereoencefalográfico entre los 7 y 14 días tras la implantación de las partículas (Westmoreland y col., 1971). Sin embargo, presenta el problema de que el cobalto produce una importante necrosis en la corteza cerebral, lo que dificulta el estudio histológico del foco (Figuras 1 a 6).

NEUROPATOLOGÍA ELEMENTAL DE LOS FOCOS EPILEPTÓGENOS POR HIDRÓXIDO DE ALUMINIO

La observación de la zona de implantación del gel de aluminio en cortes seriados de cerebro muestra un acúmulo de partículas cristaloides (partículas de hidróxido de aluminio), azules con la técnica de hematoxilina-eosina y de color pardo-rojizo, con la técnica Van Gieson. Muchas de estas partículas se observan en el interior de macrófagos y es muy intensa la reacción inflamatoria a este nivel, al menos en el curso de las primeras seis semanas tras la implantación de las mismas. A partir de la primera semana, bordeando la zona de acúmulo de estas partículas, se ob-

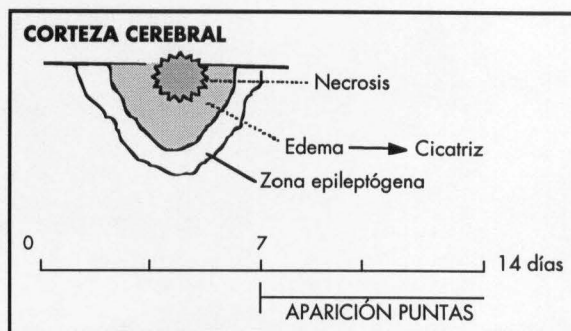


Figura 1. Esquema que muestra las alteraciones tisulares en el modelo de epilepsia focal por cobalto-gelatina. La aparición de actividad epileptopénica (puntas) se recoge con electrodos a partir de la primera semana tras la implantación de las partículas que inducen la aparición del foco.

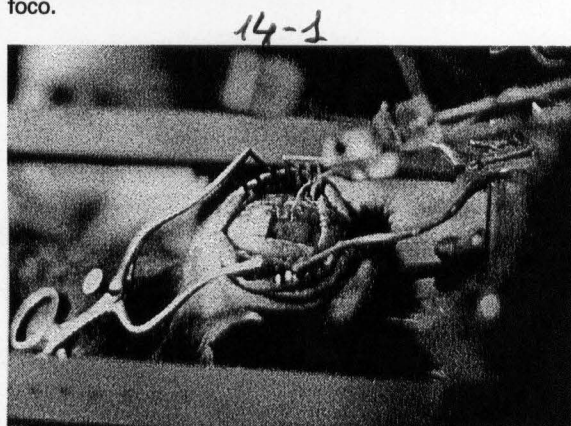


Figura 2. Exploración de la corteza motora en el mono tras la realización de una craneotomía. La estimulación eléctrica de la corteza motora induce un patrón de movimiento que permite identificar la zona donde la colocación de partículas de cobalto o de hidróxido de aluminio va a provocar la aparición de un foco epiléptico, y cuya activación dará lugar a manifestaciones motoras.

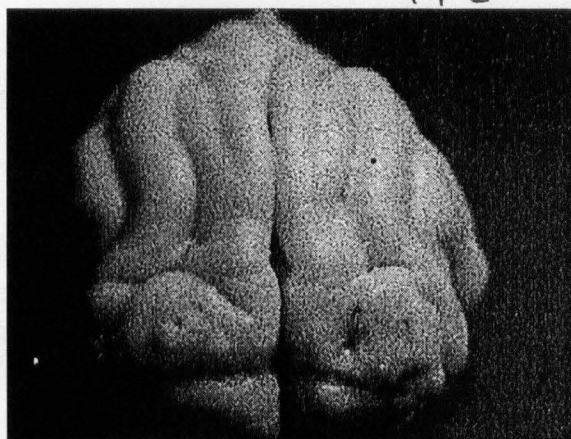


Figura 3. Cerebro de un gato adulto. En la parte inferior de la fotografía se aprecia el giro sigmoideo, correspondiente a la zona motora. Representa la región de la corteza cerebral más idónea para la provocación de un foco de epilepsia por implantación de hidróxido de aluminio.

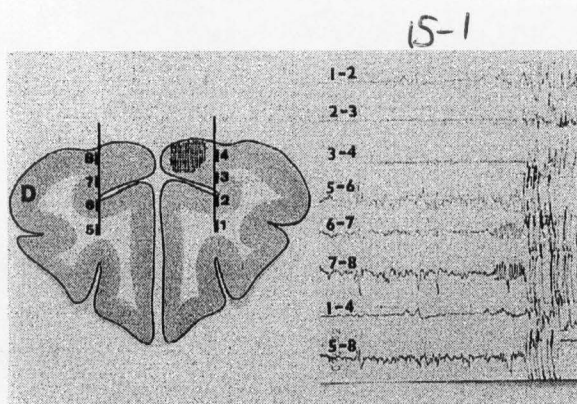


Figura 4. Registro neurofisiológico obtenido en un gato en el que se provocó una epilepsia focal por hidróxido de aluminio. Se muestra la zona de colocación de las partículas de aluminio y los electrodos colocados, con múltiples zonas de registro. A la derecha se muestra el patrón EEG recogido por los diferentes puntos de registro, lo que permite realizar una correlación anatómica.

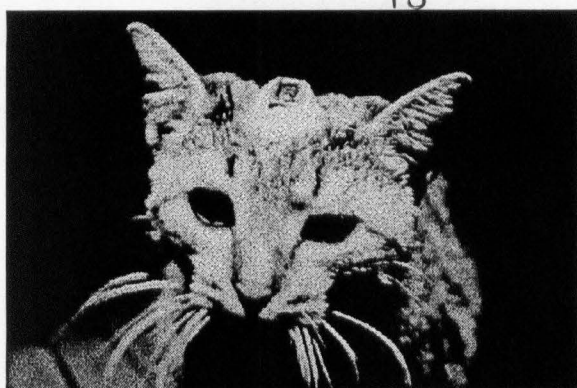


Figura 5. Fotografía de un gato adulto con los microenchufes para registro EEG, enchufados al cráneo mediante cemento acrílico. En este animal se ha inducido un foco epileptogénico por implantación de hidróxido de aluminio en giro sigmoides.

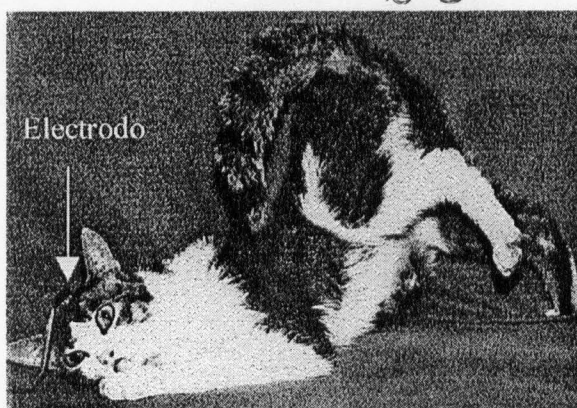


Figura 6. Fase técnica de una crisis epiléptica en el gato. Se ha inducido una epilepsia focal por hidróxido de aluminio y la crisis se desencadenó por inyección IP de pentilentetrazol.

serva una gran cantidad de fibras de colágeno y una intensa reacción glial, que se manifiesta por una hiperplasia astrocitaria, con formas gemistocíticas. Periféricamente, se observa una transición hacia zonas de aspecto normal, existiendo una clara despoblación neuronal en la zona, así como imágenes de daño neuronal inespecífico. Cuando los animales se dejan evolucionar más de un año, se aprecian alteraciones corticales que son muy similares a las de los focos humanos epileptógenos, y que consisten fundamentalmente en una intensa gliosis a nivel de la zona de implantación del hidróxido de aluminio, una intensa gliosis subcortical en las regiones corticales correspondientes y una clara despoblación neuronal (Figura 7) (Vaquero y col., 1977, 1978 y 1979).

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE LOS FOCOS EXPERIMENTALES DE EPILEPSIA

El estudio de microscopia electrónica permite objetivar una serie de alteraciones en la vecindad del foco epileptogénico, delimitado por medio del registro neurofisiológico. A las cuatro semanas de la implantación de las partículas de aluminio se observa una gran cantidad de células inflamatorias y formación de colágeno a expensas de fibroblastos. Se observa captación de hidróxido de aluminio no sólo por elementos macrofágicos, sino también por células astrocitarias y de oligodendroglia.

Entre las principales alteraciones que muestra la microscopia electrónica en un foco experimental, cabe citar la existencia de una importante gliosis



Figura 7. Intensa gliosis en un foco de epilepsia experimental por hidróxido de aluminio. Corteza motora del gato. Técnica de Golgi (cromato argéntico).

sis que desafrentiza el citoplasma de las neuronas piramidales (Figura 8). Teniendo en cuenta el elevado número de sinapsis inhibitoras en torno al citoplasma de estas neuronas, este hecho podría ser la expresión morfológica de la hipótesis de desafrentización neuronal propuesta por Westrum y col. en los focos de epilepsia (Westrum y col., 1964). Otro hallazgo radica en la existencia de gran número de neuronas oscuras que deben ser interpretadas, al menos en parte, como consecuencia de artefactos de fijación del tejido, pero también como consecuencia de que en los focos existe un elevado número de neuronas con citoplasma cargado de pigmento de desgesate (lipofuschina), haciendo a estas células más susceptibles a dichos artefactos. Por último, cabe destacar la presencia de edema dendrítico segmentario, tanto en el tronco principal como en las arborizaciones dendríticas basales de las células piramidales (Figura 9). La conservación de la morfología mitocondrial sugiere que estas imágenes no corresponden a artefactos de fijación del tejido, lo que se ve apoyado también por el hecho de que se trata de una alteración frecuente en focos en espejo. Teniendo en cuenta que estas alteraciones se han descrito en modelos de epilepsia por aplicación de ouabaína a la corteza cerebral (Tanaka, 1969) y que la ouabaína es un potente inhibidor de la bomba de sodio de la membrana celular, parece lógico admitir que estas imágenes de edema dendrítico segmentario traducen alteraciones precoces de la regulación iónica a nivel de la membrana dendrítica. Si se considera el pa-

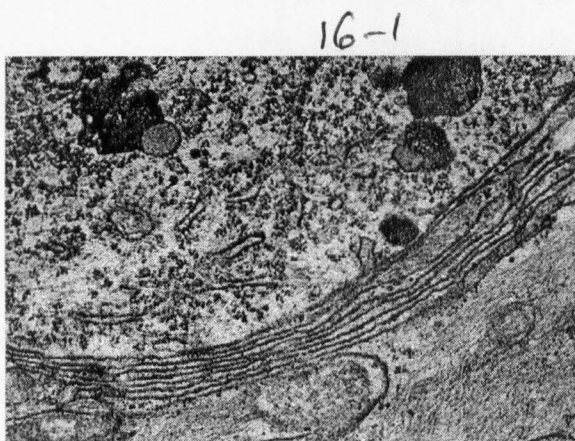


Figura 8. Microscopia electrónica de un foco de epilepsia experimental. En la parte superior se observa parte del citoplasma de una neurona piramidal, que está totalmente rodeado por laminillas correspondientes a astroglia. La gliosis lleva a desafrentizar el cuerpo neuronal, separando la membrana neuronal de los botones sinápticos inhibitorios, como el que se muestra en el centro de la parte inferior de la imagen.

pel que actualmente se atribuye a los astrocitos en el intercambio iónico del medio extracelular con la neurona, es obvio que estas alteraciones morfológicas deben relacionarse con alteraciones funcionales de los astrocitos a nivel de un foco epileptógeno. Ello implica considerar que el conocimiento de los fenómenos precoces relacionados con el desarrollo de la epilepsia focal exige el conocimiento no sólo de las alteraciones neuronales, sino también el conocimiento de las posibles alteraciones astrogliales. Esta hipótesis apoya el concepto de la unidad funcional astrocito-neurona y plantea una serie de incógnitas acerca del papel de las células gliales en la provocación y mantenimiento de un foco de epilepsia.

ALTERACIONES MORFOLÓGICAS DE LAS DENDRITAS EN FOCOS EPILEPTÓGENOS HUMANOS

Hacia 1980 estudiamos en nuestro laboratorio el aspecto de las dendritas neuronales en focos humanos de epilepsia temporal y de epilepsia frontal. Las piezas se obtuvieron en el curso de intervenciones quirúrgicas para control de crisis, tras haber sido delimitados los focos por medio de la tecnología de Talairach y Bancaud (Figura 10). El estudio fue realizado por medio de técnicas de microscopia electrónica y mediante una variante a la técnica histológica de Golgi (técnica de Golgi-Valenzuela), encontrando, como hallazgos significativos, engrosamientos segmentarios en el trayecto de los troncos dendríticos de las neuronas piramidales, que a nivel de microscopia electrónica corresponden a zonas de la dendrita donde se

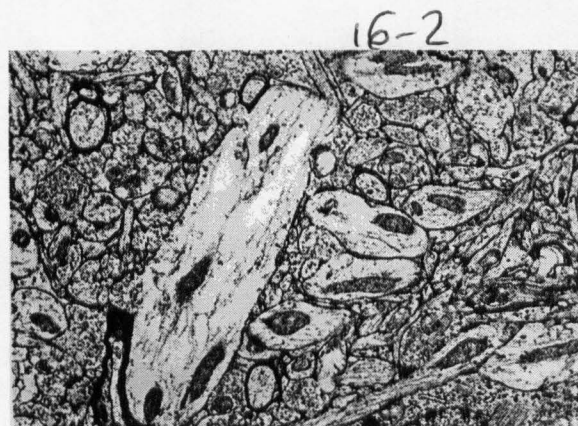


Figura 9. Microscopia electrónica de un foco de epilepsia experimental. Se observa un alto grado de edema en las dendritas, con relativa conservación de la estructura mitocondrial y del neuropilo.

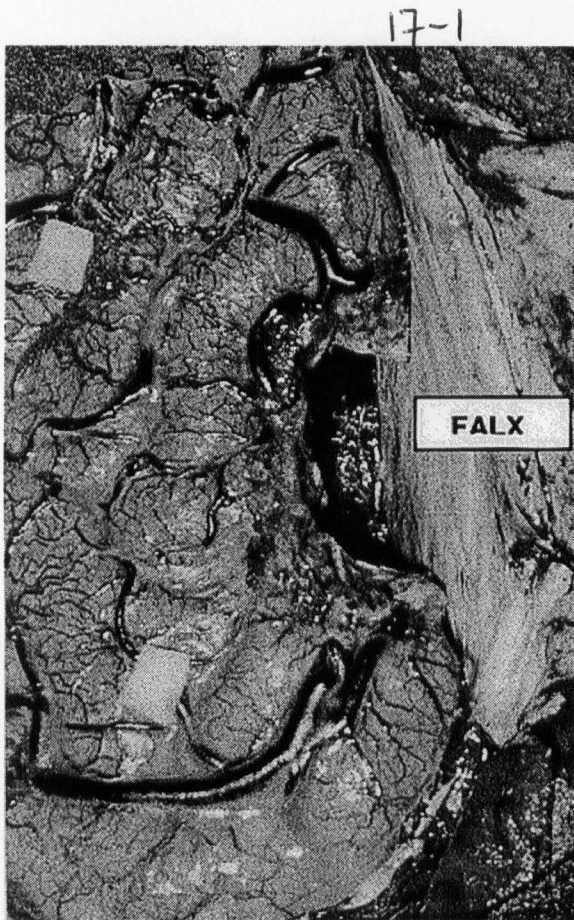


Figura 10. Campo quirúrgico tras la extirpación de un foco de epilepsia en un paciente joven. La zona reseca corresponde a la cara medial del hemisferio (área motora suplementaria), adyacente a la hoz cerebral (falx).

producen arremolinamientos de los neurotúbulos (Figura 11; Vaquero y col., 1982). La distribución y morfología de estos engrosamientos dendríticos nos llevaron a postular la hipótesis de que tal vez eran una imagen que representaba la fase crónica de las zonas de edema dendrítico segmentario corrientemente observadas en los primeros momentos de la epilepsia experimental por hidróxido de aluminio. Teniendo en cuenta que los focos experimentales muestran alteraciones morfológicas de evolución relativamente corta, parece lógico suponer que las imágenes encontradas deben tener una expresión posiblemente distinta tras varios años de evolución de la actividad epiléptica, circunstancia que se da en las piezas correspondientes a pacientes. Según esta hipótesis, podríamos admitir que en los primeros momentos de actividad epiléptica se producen alteraciones de edema dendrítico segmentario, tal vez como consecuencia de una disfunción en el intercambio iónico-metabólico (lo que implica considerar de

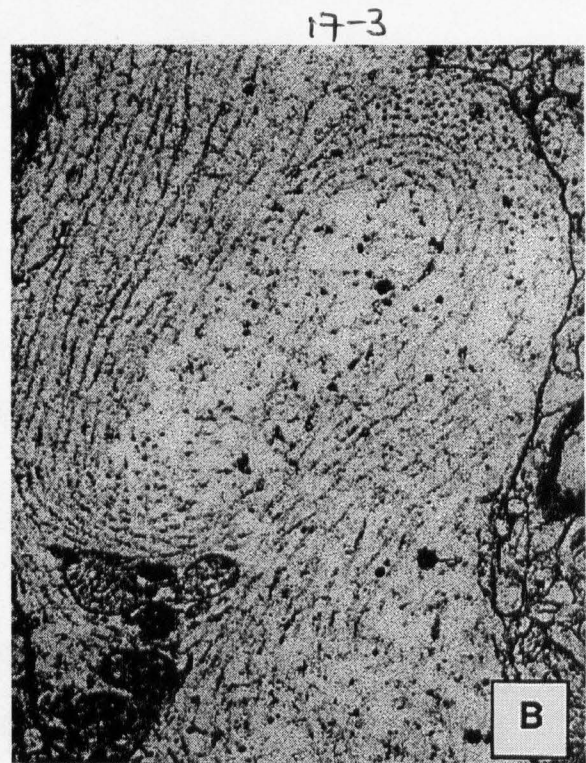
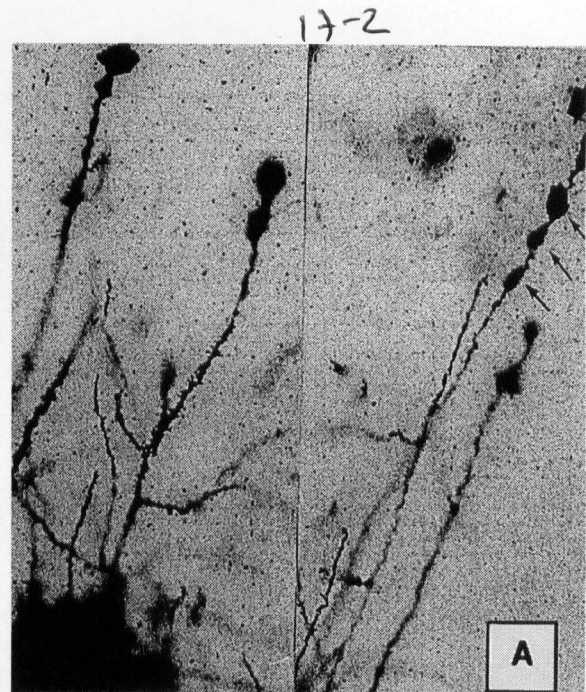


Figura 11. Aspectos anatomopatológicos de las dendritas en focos de epilepsia humana. **A:** Enrosamientos dendríticos en el trayecto de las dendritas apicales de neuronas piramidales (técnica de Golgi). **B:** Microscopia electrónica que muestra una disposición anómala, en remolino, de los neurotúbulos a nivel de estos engrosamientos.

algún modo una participación de las células gliales en el fenómeno) y que como consecuencia de ello, se altera la disposición de los neurotúbulos dendríticos. En una fase posterior, la reorganización del citoesqueleto neurotubular llevaría a la formación de estos arremolinamientos, que podrían perpetuar la actividad epiléptica por un fenómeno de distorsión de la membrana dendrítica, haciéndola más susceptible a su despolarización. En cualquier caso, cuando se estudian las dendritas neuronales correspondientes a focos epilépticos con el método de Golgi, se observan otras alteraciones, tales como una cierta disminución en el número de espinas dendríticas, hecho ya señalado en 1898 por Demoor y por Scheibel y col., en 1974, o angulaciones en su trayecto, sin que estas alteraciones puedan ser consideradas específicas, ya que se aprecian en diversos procesos neurodegenerativos o bien pueden ser consecuencia de la caprichosa impregnación neuronal con la técnica del cromato argéntico.

ALTERACIONES NEUROQUÍMICAS

Existen pocos datos acerca de las modificaciones bioquímicas en focos de epilepsia, tanto a nivel experimental como en focos humanos. Algunas publicaciones mostraron en los años setenta (Brotchi y col., 1973) un incremento de glutámico-dehidrogenasa y de glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa. En nuestra experiencia, analizando focos de epilepsia con técnicas para poner de manifiesto actividades enzimáticas, existe un claro incremento de glucosa-6-fosfatasa a nivel de focos experimentales, siendo detectado este aumento de actividad tanto sobre células neuronales como sobre la astrogliá reaccional presente en el foco (Figura 12). Estos hallazgos plantean de nuevo la coexistencia de modificaciones metabólicas en neuronas y astrocitos a nivel de un foco epiléptico y fueron confirmados por nuestro grupo en el año 1979, al estudiar ocho cortectomías humanas correspondientes a focos resecaos a nivel de la cara medial del lóbulo frontal, encontrando también indicios, en ese estudio, de un incremento de actividad adenosintrifosfatasa y fosfatasa ácida.

INCÓGNITAS ACERCA DE LA PARTICIPACIÓN GLIAL EN LA ACTIVIDAD EPILEPTOGENICA

En los últimos años se ha asignado cada vez más a las células de astrogliá un importante pa-

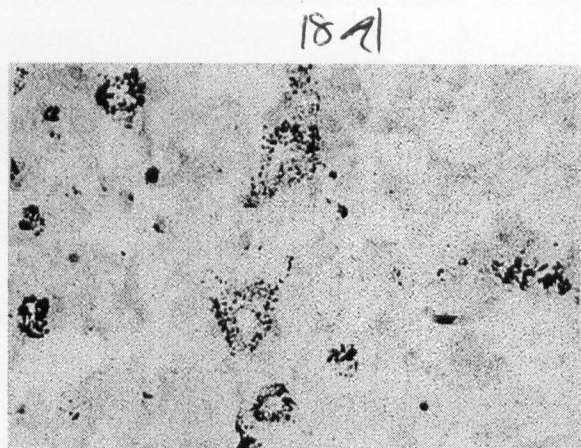


Figura 12. Marcaje de la actividad enzimática glucosa-6-fosfatasa a nivel de un foco epiléptico experimental.

pel en la actividad neuronal, sobre todo regulando el intercambio iónico con su entorno. Un concepto interesante en este sentido, surge cuando se plantea la posibilidad de que el astrocito sea capaz de elaborar ácido glutámico, a nivel de un foco de epilepsia, por acción de una glutámico-decarboxilasa, específica de estas células. La activación de este enzima tendría lugar tras la entrada de iones de potasio al interior del astrocito, cuando éstos se acumulan en el medio extracelular, tras la hiperfunción de las neuronas (Figura 13). No podemos olvidar a este respecto que una

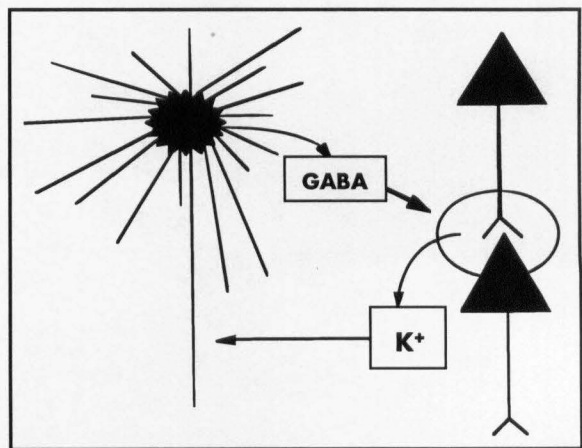


Figura 13. Esquema que muestra la posible función inhibitoria del astrocito respecto de la actividad neuronal en un foco de epilepsia. La captación por el astrocito de iones K^+ , acumulados como consecuencia de la actividad neuronal, activaría una glutámico-decarboxilasa en el citoplasma de estas células y se elaboraría GABA, que una vez liberado al medio extracelular, podría frenar la hiperexcitabilidad neuronal.

de las funciones asignadas a la astrogliía sería ser una especie de sumidero para la captación de iones potasio. Si el astrocito elabora ácido glutámico (de carácter inhibitorio sobre la actividad neuronal) y lo libera al medio extracelular en nivel de un foco de epilepsia, parece lógico aceptar que el astrocito puede funcionar como una especie de neurona inhibitoria, capaz de oponerse a una hiperfunción neuronal desordenada (Glötzner, 1973; Pollen y Trachtenberg, 1970). Ello lleva de inmediato a plantearnos si la gliosis en un foco de epilepsia es un factor nocivo que conduce al desarrollo de la actividad epiléptica, o si debe considerarse como un factor beneficioso, capaz de frenar una actividad epiléptica por medio de la elaboración local de transmisores inhibitorios, del tipo del ácido glutámico.

CONCLUSIONES

Los datos que hemos aportado muestran evidencias de que en un foco epileptogénico existen alteraciones morfológicas no sólo relacionadas con las neuronas, sino también con las células gliales. Teniendo en cuenta el papel que se atribuye actualmente a la célula glial en el intercambio iónico de la neurona con su microambiente, y la posibilidad de que la astrogliía elabore sustancias inhibitorias de la actividad neuronal, parece lógico plantear que el sustrato morfológico y bioquímico de la epilepsia debe implicar a la unidad funcional astrocito-neurona. Ello lleva a considerar un nuevo concepto neurobiológico, esto es, considerar el concepto de neuroglía epiléptica. La posible participación de las células astrogliales en el desarrollo y mantenimiento, cuando no en una inhibición, de la actividad epiléptica, requiere detallados estudios neurofisiológicos y bioquímicos que tal vez puedan aportar alguna luz en los complicados mecanismos y en las numerosas incógnitas que actualmente se nos plantean en relación con la epilepsia.

BIBLIOGRAFÍA

- BROTCHI J. Astrocytes et activités de déshydrogenases dans des épilepsies d'origine non tumorale. *Acta Neurol Belg*, 1973; 73: 36-373.
- BUJÁN J, SIMÓN P, ALONSO I, IBÁÑEZ M A, VAQUERO J, OYA S, LOZANO A P, MANRIQUE M, COCA S. Estudio histoquímico de focos epileptógenos experimentales producidos por gel de aluminio. *Arch Fac Med Madrid*, 1978; 34: 117-122.
- DEMOOR J. Le mécanisme et la signification de l'état moniforme des neurones. *Ann Soc R Sci Med Nat Brux*, 1898; 7: 205-250.
- GLÖTZNER F L. Membrane properties of neuroglia in epileptogenic gliosis. *Brain Res*, 1973; 55: 159-171.
- KOPELOFF L M, BARRERA S E, KOPELOFF N. Recurrent convulsive seizures in animals produced by immunological and chemical means. *Am J Psychiat*, 1942; 98: 881-902.
- POLLEN D A, TRACHTENBERG M C. Neuroglia: gliosis and focal epilepsy. *Science*, 1970; 167: 1252-1253.
- RODRÍGUEZ DELGADO J M. Evaluation of permanent implantation of electrodes within the brain. *EEG Clin Neurophysiol*, 1955; 7: 637-644.
- SCHEIBEL M E, CRANDALL P H, SCHEIBEL A B. The hippocampal-dentate complex in temporal epilepsy: A Golgi study. *Epilepsia*, 1974; 15: 55-80.
- TALAIRACH J, BANCAUD J, SZIKLA G, BONIS A, GEIER S, VEDRENNE C. Approche nouvelle de la neurochirurgie de l'épilepsie: Méthodologie stéréotaxique et résultats thérapeutiques. *Neurochirurgie*, 1974; 20 (suppl 1): 1-240.
- TANAKA R. Electron microscopy study of ouabain-induced edematous brain. *Brain and Nerve (Jap)*, 1969; 21: 853-856.
- VALENZUELA, CHACÓN J. *Neuroglia*. Madrid: Ed Marbán, 1970.
- VAQUERO J, LOZANO A P, OYA S, MANRIQUE M, MARTÍNEZ R. Long term morphology of the alumina cream experimental epileptogenic focus. *Acta Neurochir (Wien)*, 1980; 54: 205-212.
- VAQUERO J, OYA S, BUJÁN J, MANRIQUE M, LOZANO A P. Gliosis y epilepsia focal crónica experimental. *Arch Fac Med Madrid*, 1977; 32: 107-116.
- VAQUERO J, OYA S, CABEZUDO J M, BRAVO G. Morphological study of human epileptic dendrites. *Neurosurgery*, 1982; 10: 720-724.
- VAQUERO J, OYA S, LOZANO A P, MANRIQUE M, BUJÁN J. Estudio histofisiológico de focos epileptógenos experimentales por hidróxido de aluminio. *Arch Fac Med Madrid*, 1978; 34: 17-24.
- VAQUERO J, OYA S, MANRIQUE M, BUJÁN J, LOZANO A P, ZAMORANO L, BRAVO G. Medial frontal epilepsy: histological and ultrastructural study. Preliminary observations. *Acta Neurochir (Wien)*, 1979; 46: 233-241.
- VAQUERO J, OYA S, MANRIQUE M, LOZANO A P, BRAVO G. Ultraestructural study of the astroglial reaction in the focal experimental epilepsy. *Trab Inst Cajal Invest Biol*, 1977; 69: 181-187.
- VAQUERO J, OYA S, MANRIQUE M, LOZANO A P, BUJÁN J, ZAMORANO L, BRAVO G. Electron microscopy of the neuronal alterations in experimental alumina cream epilepsy. *Trab Inst Cajal Invest Biol*, 1978; 69: 147-154.
- VAQUERO J, OYA S, MANRIQUE M, LOZANO A P, BUJÁN J. Neurona oscura y epilepsia. *Arch Fac Med Madrid*, 1978; 33: 155-162.
- WESTMORELAND B F, HERMAN M, HANNA G, BASS N. Cobalt-induced secondary epileptogenesis in the cerebral cortex of the albino rat: A neurophysiologic, morphologic and microchemical study. *Epilepsia*, 1971; 12: 280-286.
- WESTRUM L E, WHITE L E, WARD A A Jr. Morphology of the experimental epileptic focus. *J Neurosurg*, 1964; 21: 1033-1046.