

Evaluación de la sensibilidad epiléptica audiogénica en ratas: estudio preliminar de inyección estereotáxica de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) y papel anticonvulsivo de Clobazam

NORBERTO GARCÍA CAIRASCO¹, HÉCTOR HERNANDO TRIVIÑO SANTOS²

Utilizando un método de observación y registro sistemático del comportamiento (etológico), fueron evaluadas 20 ratas machos albinos Wistar, discriminando si poseían sensibilidad a epilepsia audiogénica o no. Para ello fue utilizada estimulación acústica de alta intensidad y el comportamiento evaluado mediante un índice de severidad audiogénica. Los animales sensibles (N=2) fueron sometidos a un esquema de evaluación del poder anticonvulsivo de Clobazam. Los resultados mostraron que hubo protección de manera dosis-efecto, cuando la benzodiazepina era inyectada en suspensión e intraperitonealmente en dosis crecientes (3.0; 5.6; 10 mg/kg), alternadas con inyecciones de solución salina 0.9%. Los animales resistentes fueron sometidos a lesión química por 6-Hidroxidopamina (6OHDA) en la *substantia nigra compacta* y lesión electrolítica de la *substantia nigra* contralateral (N=6), mientras que los controles recibían, o solución salina 0.9% o lesión ficticia (N=10). Los resultados muestran un efecto de asimetrías y aumento de la sensibilidad audiogénica en los animales después de la lesión electrolítica y no por 6OHDA, a diferencia de los controles que no alteraron su comportamiento. La relación de asimetrías y sensibilidad epiléptica subsiste a la función normal y patológica de circuitos de los ganglios basales, sobre todo en los eferentes de la *substantia nigra*.

Palabras claves: convulsión audiogénica, epilepsia, benzodiazepina, 6-hidroxidopamina, *substantia nigra*.

Introducción

Las convulsiones audiogénicas (C.A) son consideradas como uno de los modelos experimentales de la epilepsia de mayor utilización en las Neu-

rociencias, no sólo por su carácter genético (1,2), sino por su gran valor en la caracterización de crisis tónico clónicas (3). Por estas razones, facilitan el estudio de mecanismos básicos en epilepsia y la evaluación de nuevas posibilidades terapéuticas (4).

Las C.A son estudiadas en roedores (ratas y ratones en particular). Son producidas por estímulos acústicos de alta intensidad (90-120 dB SPL), o por rangos de alta frecuencia (8-22 KHZ). Por esta razón son consideradas crisis reflejas (5). Dentro de los mecanismos neuroanatómicos o neurofisiológicos de las C.A., se considera que los

Recibido 25 octubre, 1986. Aceptado 14 noviembre, 1986.

1 Ph.D. Profesor asociado. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.

2 M.D. Facultad de Salud. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.

© Universidad del Norte

colículos inferiores (5-9), serían la región acústica más rostral necesaria para su procesamiento, ya que lesiones corticales o talámicas de la vía auditiva, no eliminan las crisis. En la última década, el interés mayor en este tipo de cuadro epiléptico se ha centrado en los mecanismos vinculados a estructuras del tallo cerebral (9). Particularmente, la *substantia nigra* se ha involucrado recientemente en la acción antiepiléptica endógena que explicaría el control inhibitorio de varios modelos de epilepsia experimental (10,11) y en las C.A. (12,13). Al mismo tiempo, Browning et al. (14), han mostrado que particularmente las lesiones localizadas en la formación reticular mesencefálica y pontina (núcleo *Reticularis Pontis Oralis*), pueden abolir las C.A. en animales genéticamente sensibles. La *substantia nigra* entonces está situada en una posición crucial, ya que al participar en la coordinación sensorial y motora, es una de las grandes salidas de los ganglios basales, y su expresión (por activación de sus eferentes), tiene mucha importancia en la presentación de cuadros motores como los mencionados aquí (11).

Con el fin, entonces, de contribuir al entendimiento de estos mecanismos de tronco cerebral en las C.A., diseñamos los siguientes experimentos que buscaban, inicialmente, caracterizar nuestros animales como sensibles (S), o resistentes (R), después de estimulación acústica. Igualmente, evaluamos en los animales resistentes el efecto de la microinyección, en la *substantia nigra compacta* (dopaminérgica), de 6-Hidroxidopamina (6OHDA), potente neurotóxico específico de neuronas catecolaminérgicas; o el efecto de lesión electrolítica en la *substantia nigra reticulata*, (Gabaérgica), contralateral a la inyección de 6OHDA. Las dos manipulaciones anteriores producen comportamientos de rotación como consecuencia de asimetrías extrapiramidales (15-17), por lo que resulta interesante verificar su posible relación con las asimetrías y giros de la fase procursiva, consideradas como componentes iniciales y necesarios para la expresión de la secuencia convulsiva tónico-clónica de las C.A. (18).

Finalmente, y como en cualquier cuadro epiléptico experimental, es estudiado el papel de la neurotransmisión gabaérgica, por lo que, en animales sensibles, diseñamos y evaluamos curvas dosis-respuesta comportamental, para una 1,5 Benzodiazepina, el clobazam, de muchísima utili-

dad, hoy, en el tratamiento de la epilepsia clínica.

En todos nuestros experimentos se realizaron evaluaciones de secuencias de comportamiento (19,20), correlacionadas con los eventuales mecanismos neurales vinculados a su procesamiento y desarrollo (NEUROETOLOGIA). Este tipo de estudio ya había sido utilizado para evaluar las C.A. y los efectos de lesiones en la *substantia nigra*, hemisferectomía parcial, lesión del colículo inferior y su relación con potenciales acústicos evocados del tronco cerebral, (21,22). (García-Cairasco & Sabbatini en prensa).

Material y métodos

Sujetos: 20 ratas Wistar machos adultos con pesos entre 300-390 gr. al inicio de los experimentos, fueron alojados en jaulas individuales en el bioterio de la Facultad de Salud de la UIS. Todos los animales tenían agua y comida *ad libitum* y estaban sometidos a un ciclo de luz artificial de 12 h/12 h.

Sistema de estimulación: Para los experimentos de sensibilidad audiogenética, la estimulación acústica era producida por un timbre común (117 dB SPL), instalado en el techo de una caja de acrílico de 40x40x45 cms, que se encontraba dentro de otra de fibra de vidrio y metal (50x50x60 cms), dándole aislamiento acústico. La caja externa facilitaba la observación de los comportamientos de los animales por una ventana frontal de vidrio. Igualmente, su interior era iluminado con una bombilla roja pequeña de 15 W.

Después de colocar el animal en la caja interior de acrílico, eran observados los comportamientos durante dos minutos, antes de accionar externamente el sonido. Este era mantenido durante un máximo de uno y medio minutos. Si se presentaban convulsiones tónicas, el sonido era retirado, dejando que el cuadro convulsivo se desarrollara autónomamente. El comportamiento post-estímulo era observado por lo menos durante un minuto, sobre todo para realizar pruebas de presencia o ausencia de reflejos de enderezamiento y antinocicepción (por pinzamiento de la cola). Todos los experimentos fueron realizados entre las 5 y 6:30 p.m., en días alternados para cada animal (cuatro pruebas por animal en cada fase experimental).

Registro del comportamiento

Inicialmente fue elaborado un etograma que consistía en un diccionario de los diferentes patrones de comportamiento emitidos por los animales antes, durante o después de la estimulación acústica. Para ello nos basamos en el trabajo de García-Cairasco (21). Sus abreviaturas y significados se ilustran en la *tabla 1*.

El método de análisis consistía en registrar las categorías comportamentales tan pronto como eran observadas. Generalmente, los registros eran realizados simultáneamente por dos observadores entrenados para aumentar la confiabilidad de los mismos. Con la ayuda de un cronómetro eran registrados también los tiempos de presentación de, por lo menos, los ítems indicadores de susceptibilidad audiogenética (fase procursiva y convulsiva).

Inyección de drogas y tratamiento quirúrgico

Clobazam (HOECHST-IBERICA), fue aplicado en suspensión en solución salina 0.9%, intraperitonealmente y en dosis crecientes de 3.0, 5.6 y 10 mg/kg de peso. Los controles fueron realizados con volúmenes proporcionales de solución salina 0.9% , de acuerdo con el peso de los animales. En el caso de los animales que recibieron 60HDA intra-nígrica, todos ellos fueron pre-tratados 30 minutos antes con dosis de 10 mg/kg de peso de 2-Hidroximipramina o 2-Hidroxidesmetilimipramina (NIMH, USA), para proteger las neuronas noradrenérgicas y hacer selectiva la lesión en cuerpos celulares dopaminérgicos. Las inyecciones intracerebrales de 60HDA, se realizaron en la *substantia nigra compacta* usando agujas Mizzi odontológicas de 0.25 mm de diámetro, colocadas en las siguientes coordenadas estereotáxicas, de acuerdo con el Atlas de Paxinos & Watson (23). AP: 5.3 mm posterior al Bregma (intersección de la sutura sagital con la coronal); L: 2,3 mm lateral a la línea media izquierda; P: 7.0 abajo de la duramadre. Se usó aguja y microjeringa Hamilton unidas a la cánula (aguja odontológica), por un catéter PE 10 de polietileno. Los volúmenes inyectados siempre fueron de 0.6 ul, de solución salina 0.9% (N = 10) y 0.4 ug de 60HDA (N = 6).

Todos los animales fueron estudiados posteriormente, diez (10) días después de las inyecciones. En este caso eran realizados otros cuatro

“tests”, para caracterizar el comportamiento promedio.

Terminada esta fase se realizó una nueva cirugía estereotáxica, produciéndose lesiones electro-líticas unilaterales en la *substantia nigra reticulata*, contralateral a la inyección de 60HDA (N = 6), y lesión ficticia en la *substantia nigra reticulata* contralateral de aquellos animales que recibieron solución salina (N = 10).

La lesión electro-lítica fue producida al realizar orificio en la calota craneana y pasar por un electrodo de acero inoxidable (diámetro 0.5 mm), esmaltado excepto en la punta (0.3 mm), una corriente anódica de 5 mA x 10 segundos (50 mCoulombios), mientras que la lesión ficticia consistía en introducir el electrodo después de exponer el cráneo y abrir orificio pequeño, pero sin paso de corriente.

Las coordenadas para la lesión de la *nigra reticulata* fueron AP: 5.3 mm posterior al bregma; L:2,5 mm lateral a la línea media (derecha), P:7.5 mm abajo de la duramadre y 7.3 mm en el caso de lesión ficticia. Un mes después otros cuatro “tests” eran realizados para evaluar la sensibilidad audiogénica.

Para verificar pre-histológicamente, eventuales asimetrías debidas tanto a la inyección de 60HDA como a la lesión electro-lítica, todos los animales R fueron evaluados después de inyección de P-clo-roanfetamina i-p (3 mg/kg), para comportamiento de rotación. Se comparaba el comportamiento después de la inyección de 0,5 ml de solución salina 0.9% (15 minutos), y de la inyección de anfetamina (30 minutos). Se elaboraron índices de asimetría (24) y escalas de comportamiento de rotación (25,26). El índice de asimetría (%) es:

$$\frac{\text{Giros en la dirección dominante}}{\text{Giros en ambas direcciones}} \times 100$$

Sólo son considerados asimétricos los animales con índices $\geq 75\%$

La escala para rotación se resume así:

Valor	Descripción
0	Ausencia de comportamiento de giros. Animales con comportamiento como los de solución salina.

- 1 Giros poco frecuentes (≤ 4 rpm) de actividad locomotora hacia adelante.
- 2 Giros frecuentes pero discontinuos con actividad locomotora hacia adelante ocasional.
- 3 Giros continuos ("circling").
- 4 Giros continuos con enrollamiento agudo del cuerpo.

Análisis de los datos comportamentales

Aunque nuestro estudio no ha sido hasta ahora cuantitativo, por lo menos en las secuencias de comportamiento, presentamos aquí un análisis cualitativo de los patrones más comunes presentados por los animales S o R, antes o después de las diferentes manipulaciones.

Los registros se presentarán antes, durante y después de la estimulación acústica. Cada ítem es representado por círculos que se conectan entre sí por flechas que en cualquier dirección indican las asociaciones observadas. Este análisis de aglomerados (*clusters*), evalúa patrones de comportamiento (20). Un índice cuantitativo de estos patrones lo constituye el Índice de Severidad Audiogénica elaborado por García-Cairasco & Sabbatini (22), que resumidamente presentamos:

$$I_s = \frac{0.3C_1 + 0.4C_2 + 0.2CAT + 0.1SAL + 0.2CVCg + 0.1CVCp + 0.3ECL + 1C_3CVT}{2.6}$$

donde:

- C₁ : Giros cortos no seguidos de convulsión
- C₂ : Giros largos no seguidos de convulsión
- CAT : Caídas atónicas
- SAL : Saltos
- CVCp: : Convulsiones clónicas parciales
- CVCg : Convulsiones clónicas generalizadas
- ECL : Espasmos clónicos
- C₃CVT : Corridas cortas y convulsiones tónicas.

Los valores promedios de este índice fueron obtenidos para cada grupo experimental. Las diferencias entre los grupos se evaluaron por el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas (27).

Histología

Después de terminados todos los experimentos, los animales con manipulaciones intracerebrales fueron sacrificados y sus cerebros perfundidos transaórticamente *in situ*, con solución salina 0.9% y formol 10% (30 ml de c/u), para fijación durante 24 horas. Los cortes de 4 μ m fueron incluidos en parafina o congelados y analizados para determinar los tamaños de lesión, usando o no violeta de cresilo según disponibilidad. Los gráficos secuenciales histológicos fueron construídos de acuerdo con el Atlas de Paxinos & Watson (23).

Resultados y discusión

1. Análisis de comportamiento pre-lesión o preinyecciones

Realizadas las primeras secuencias de estímulos pudimos observar que, de los 20 animales utilizados, 17 se comportaron como residentes, (4 "tests" con $\bar{I}_s = 0$) y 3 de ellos se comportaron como sensibles (4 test con $\bar{I}_s \geq 0.36$). De los resistentes fueron usados hasta el final 16 animales y de los sensibles sólo dos que presentaron patrones homogéneos de sensibilidad.

Las secuencias comportamentales de animales S, aparecen ilustradas en la figura 1, sobresaliendo en ellas los comportamientos exploratorios y de autolimpieza en la fase de pre-estimulación, así como el sobresalto, corridas, asimetrías (doblamiento del cuerpo y giros), de la fase procursiva (pre-convulsiva). Igualmente, las caídas atónicas y saltos (ver tabla 1), terminando en la rigidez pre-ictal. La fase de post-estimulación se caracteriza por convulsiones tónicas y clónicas (parciales y generalizadas), y espasmos clónicos, así como alteraciones autonómicas, generalmente respiratorias, ligadas al proceso convulsivo. No se registran las actividades exploratorias post-estimulación puesto que el animal era retirado en la inmovilidad post-ictal para evaluarse sus reflejos de enderezamiento y respuesta antinociceptiva. En los animales sensibles estos reflejos estaban ausentes, determinando una fase de depresión generalizada post-ictal. Sin embargo, están presentes reflejos como los corneo-palpebrales.

Por otro lado los animales resistentes exhiben patrones de comportamiento tanto diferentes (ver figura 2). En la fase de pre-estimulación, sin embargo, no es posible distinguirlos de los animales

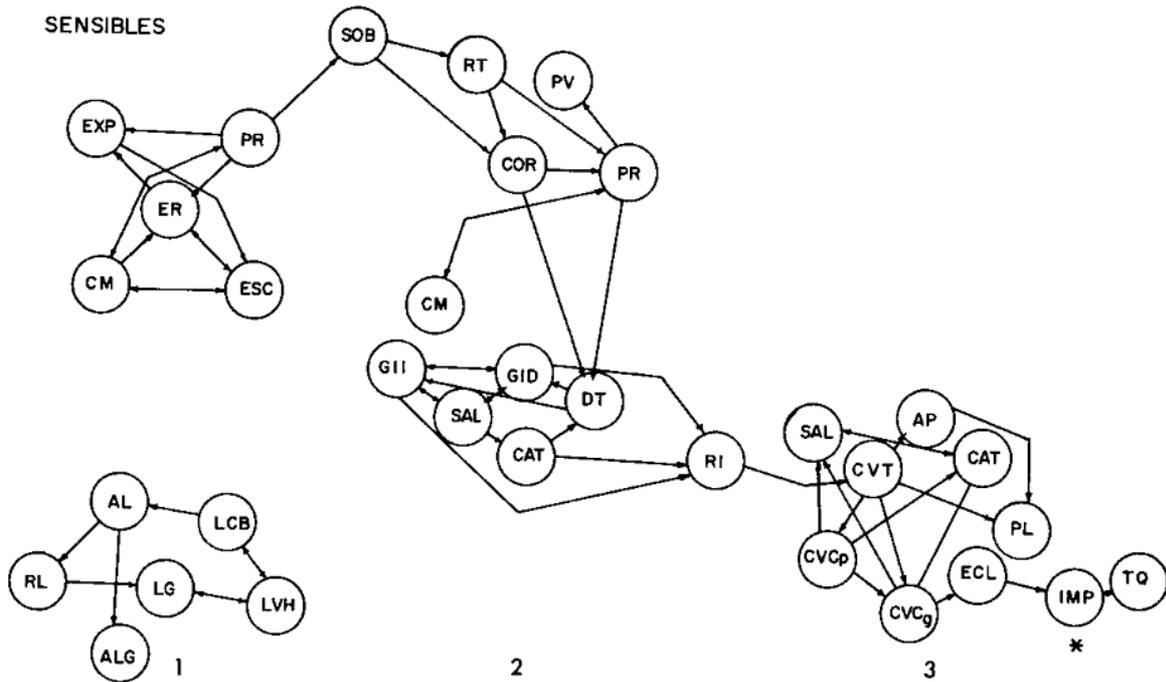


FIGURA 1: Secuencias comportamentales presentadas por animales sometidos a estimulación acústica y que presentan patrón de sensibilidad audiogénica (S). 1: Pre-estimulación; 2: Durante estimulación; 3: Post-estimulación. Los códigos corresponden a los consignados en la tabla 1. *Fase de inmovilidad post-ictal. En esta fase son evaluados los reflejos de enderezamiento y antinocicepción. Los círculos corresponden a la presencia de cada ítem, las flechas y su dirección indican la asociación entre pares de ítems (díadas).

TABLA 1. - Etograma simplificado (código y nombres), de los ítems de comportamientos de sensibilidad audiogénica.

AL	Auto-limpieza	ECH	Echado - Acostado
ALD	Auto-limpieza del lado derecho	ECHD	Echado sobre el lado derecho
ALI	Auto-limpieza del lado izquierdo	ECHI	Echado sobre el lado izquierdo
ALG	Auto-limpieza de las gónadas	ECL	Espasmos clónicos
ANT	Reflejo anti-nociceptivo	END	Reflejo de enderezamiento
AP	Apnea	ENRD	Enrollarse hacia la derecha
ARS	Arrastrarse	ENRI	Enrollarse hacia la izquierda
CAT	Caídas atónicas	ER	Erecto
CG	Congelamiento - Inmóvil	ESC	Escudriñar
CM	Caminar	EXCR	Excretar
CHD	Chocar los dientes	EXP	Explorar
COR	Correr	EXT	Extendido
CORD	Correr hacia la derecha	GID	Girar hacia la derecha
CORI	Correr hacia la izquierda	GII	Girar hacia la izquierda
CVC	Convulsiones clónicas	IMP	Inmovilidad Post-Ictal
CVCg	Convulsiones clónicas generalizadas	LCB	Lavarse la cabeza
CVCp	Convulsiones clónicas parciales	LG	Lavarse las garras
CVT	Convulsiones tónicas	LVH	Lavarse el hocico
DIS	Disnea	LVP	Lavarse el pescuezo
DTD	Doblamiento tónico derecho	MT	Masticar
DTI	Doblamiento tónico izquierdo	OB	Orejas bajas

PL	Piloerección	RLD	Rascarse el lado derecho
PR	Parado	RLI	Rascarse el lado izquierdo
PV	"Pivotear" - Mover la cabeza a lado y lado	SAC	Sacudida
PV'	"Pivotear" - Mover la cabeza, pezcuezo y parte anterior del tronco a lado y lado	SAL	Salto
RT	Retroceder	SOB	Sobresalto acústico
		TQ	Taquipnea
		TR	Tremor
		VOC	Vocalizaciones

RESISTENTES

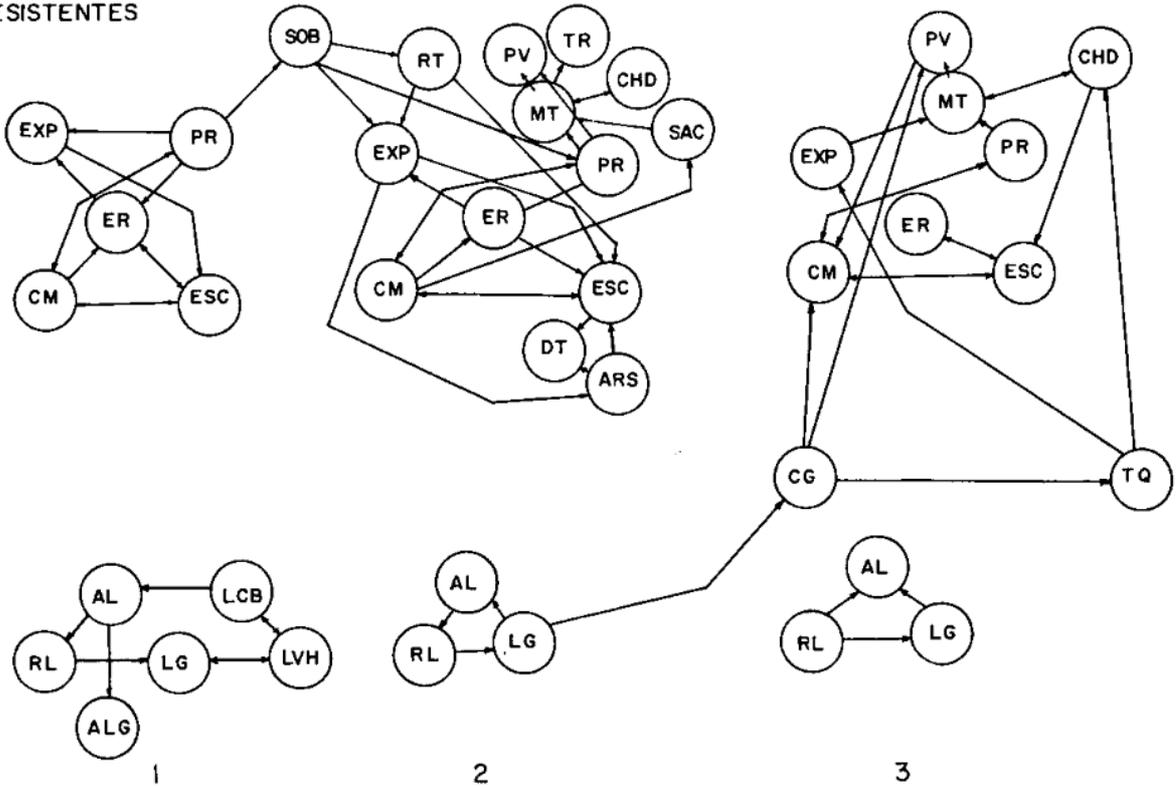


FIGURA 2: Secuencias comportamentales presentadas por animales sometidos a estimulación acústica y que presentan patrón de resistencia (R), a estimulación acústica. La nomenclatura corresponde a la misma de la figura 1. Los códigos se consignan en la tabla 1.

S, ya que al igual que ellos presentan los patrones de exploración y autolimpieza.

La fase de estimulación es iniciada como en los S por el sobresalto y retroceder, seguido, o por congelamientos o comportamientos nuevamente exploratorios y de autolimpieza. Sin embargo, segundos después de iniciado el estímulo el animal presenta un nuevo patrón de automatismos faciales; (masticar, lamer, chocar los dientes, sacudir la cabeza, movimientos latero-laterales de cabeza ("pivot"), tremores faciales con exoftalmos).

Como el criterio de retirada del sonido es la presentación de la fase convulsiva tónica, los animales resistentes son estimulados durante los 90 segundos completos, al cabo de los cuales el animal congela al retirarse el estímulo.

Los animales resistentes presentaban reflejos de enderezamiento y antinocicepción normales. Sólo en algunos casos donde el congelamiento era acentuado se presentaba una pérdida del reflejo de enderezamiento, pero no de la antinocicepción. Sin embargo, no era lo más frecuente.

Los resultados de secuencias comportamentales aquí presentados confirman, aunque cualitativamente, los hallazgos cuantitativos de García-Cairasco & Sabbatini (22). Nos indican fundamentalmente que es posible discriminar por medio del análisis etológico, patrones de comportamiento que distinguen animales S y R a convulsiones audiogénicas. Los experimentos realizados a continuación buscan, por consiguiente, utilizar estos patrones para verificar los efectos de Clobazam, una 1,5 Benzodiazepina antiepiléptica sobre patrones de animales sensibles (cambio S → R) y los efectos de la inyección de 60HDA intracerebral en animales resistentes (cambio R → S).

2. Efectos de inyección sistémica (i.p), de dosis crecientes de clobazam (3.0, 5.6, 10.0 mg/kg) sobre la sensibilidad audiogénica de ratas S

La figura 3 ilustra el patrón de comportamiento presentados por animales sensibles (N = 2) y que recibieron dosis de 10 mg/kg (i.p) de Clobazam. Sólo se muestran los comportamientos durante la estimulación, siendo caracterizados por el sobresalto al introducirse el estímulo, re-

troceder y algunas actividades exploratorias. Sin embargo, a diferencia de sus controles S, (figura 1), presentaron actividades de masticación y un patrón clarísimo de autolimpieza (ítems, limpieza de garras, lavar hocico y cabeza) con fuertes asociaciones entre ellos. Igualmente presentaron el comportamiento de movimientos laterolaterales de cabeza ("pivot"). Al retirarse el sonido congelaron, teniendo la frecuencia respiratoria aumentada (taquipnea), y algunos perdieron el reflejo de enderezamiento.

Las dosis de 3.0 y 5.6 mg/kg mostraron algunas variaciones pero, en general, pudieron enmarcarse en una curva dosis-efecto.

La figura 4(a) ilustra la curva dosis efecto del animal 3 promediadas dos repeticiones por dosis y alternadas con solución salina 0.9%. Al parecer, la única dosis eficaz en este caso fue de 10 mg/kg, e inclusive después de ella hubo resultados de salina, con bloqueo de comportamiento sensible (¿posible permanencia de la droga?).

El efecto comportamental se evaluó mediante el cálculo del índice de severidad (Is). En la figura

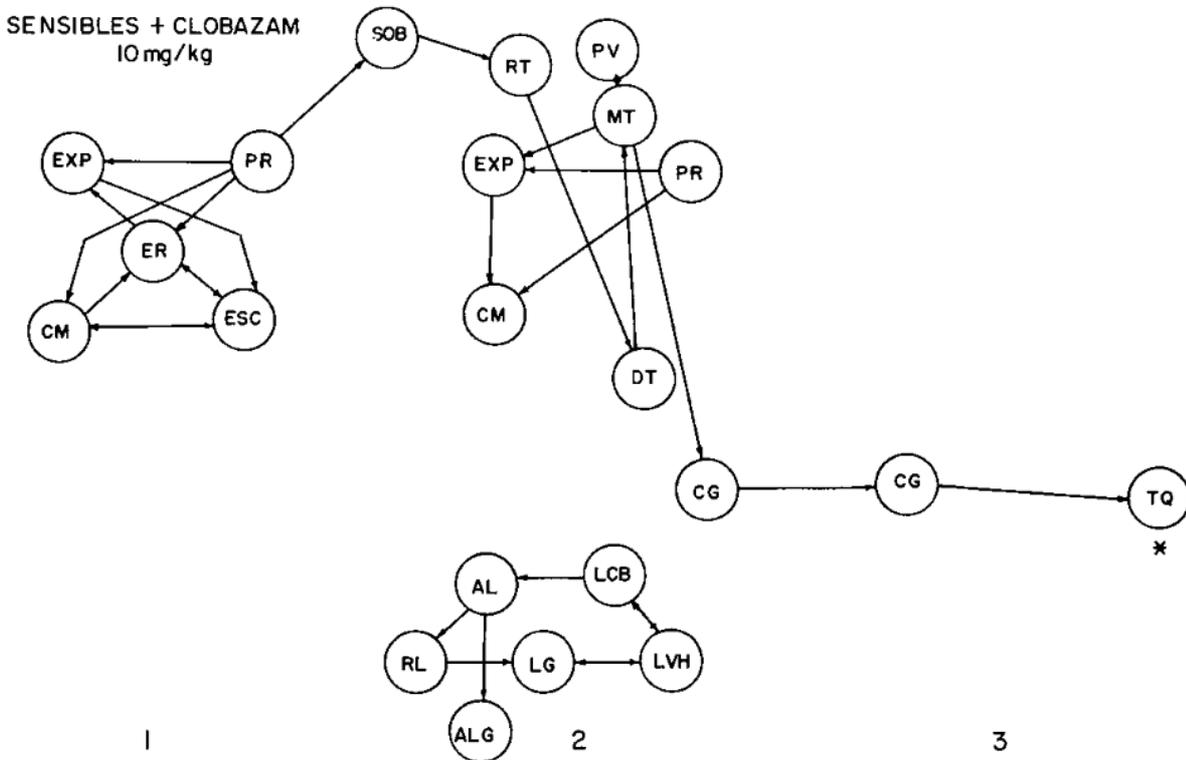


FIGURA 3: Secuencias comportamentales presentadas por animales sometidos a estimulación acústica; que presentaron patrón de sensibilidad audiogénica (S), y que fueron tratados con 10 mg/kg de Clobazam i.p. La nomenclatura es idéntica a la de la figura 1.

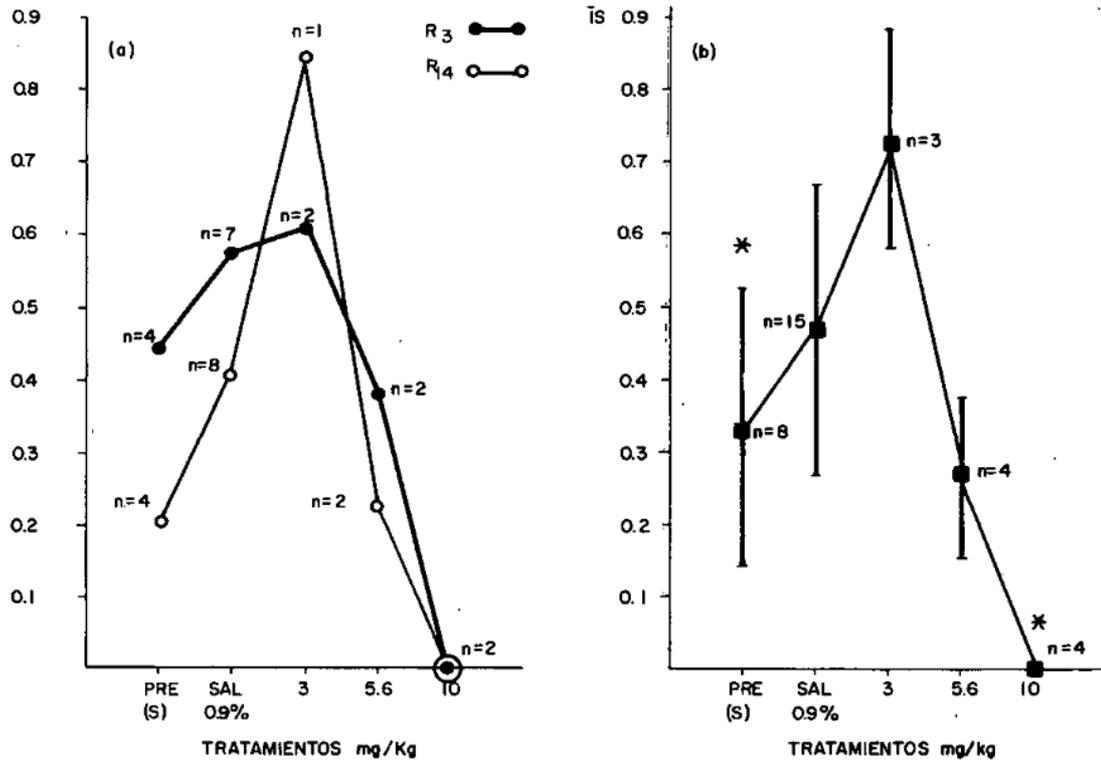


FIGURA 4: Curvas dosis-respuesta comportamental de Clobazam aplicado i.p. y comportamiento audiogénico de ratas sensibles (S), a estimulación acústica. I_s = Índice de severidad promedio. SAL: Salina 0.9% (control). a): Resultados individuales de animales sensibles (R₃ y R₁₄). b): Resultados promediados de los dos animales. *Diferencia entre las medias mayor que el error de la diferencia entre las medias, por lo que las medias son estadísticamente diferentes.

4(a) se ilustra la curva dosis-efecto del animal No. 14, que presentó respuestas de protección por Clobazam relacionadas con la dosis. Así, 3.0 mg/kg fue no efectiva; 5.6 mg/kg efectividad media y 10 mg/kg efectividad máxima. En la figura 4(b) se observan los valores promediados de los animales mencionados.

El papel anticonvulsivo del Clobazam en la epilepsia refleja ya había sido estudiado (28), y más recientemente comparado con otras sustancias antiepilépticas como Diazepam, Fenobarbital y Valproato (29). Justamente, nuestros datos coinciden con los de estos autores, aunque en el caso de Chapman et al, (28), las dosis efectivas son menores. En realidad utilizamos suspensión de Clobazam en solución salina 0.9% siendo que es prácticamente insoluble, mientras que los autores mencionados prepararon un vehículo que permite mayor absorción rápida y mejor efectividad central.

Particularmente, nos interesaría correlacionar estos resultados de Clobazam y sensibilidad epiléptica con lesiones o manipulaciones cerebrales de estructuras conocidamente Gabaérgicas (Ex:

substantia nigra), para la cual debemos aumentar nuestro número de animales. Sin embargo, la metodología etológica se ha mostrado eficiente en el reconocimiento de patrones aun con el número reducido de nuestra muestra, y detectando cambios reales en la secuencia comportamental en el sentido S → R.

La susceptibilidad a epilepsia audiogénica y el aumento de ligamen de receptores para benzodiazepinas ya había sido demostrado por Robertson (30).

3. Efectos de la inyección estereotáxica de 60HDA (0.4 ng/0.6 nl) en la *substantia nigra* sobre la sensibilidad audiogénica de ratas R.

La figura 5 ilustra las secuencias de comportamiento de animales resistentes, es decir, con patrones pre-inyección como los de la figura 2. Después de 10 días de haber realizado las inyecciones de 60HDA en la *substantia nigra* compacta izquierda (N = 6), o solución salina en la misma estructura en otros animales (N = 10), los comportamientos pre-estimulación conservaron los patrones de las categorías exploración y autolimpieza.

RESISTENTES + 60HDA

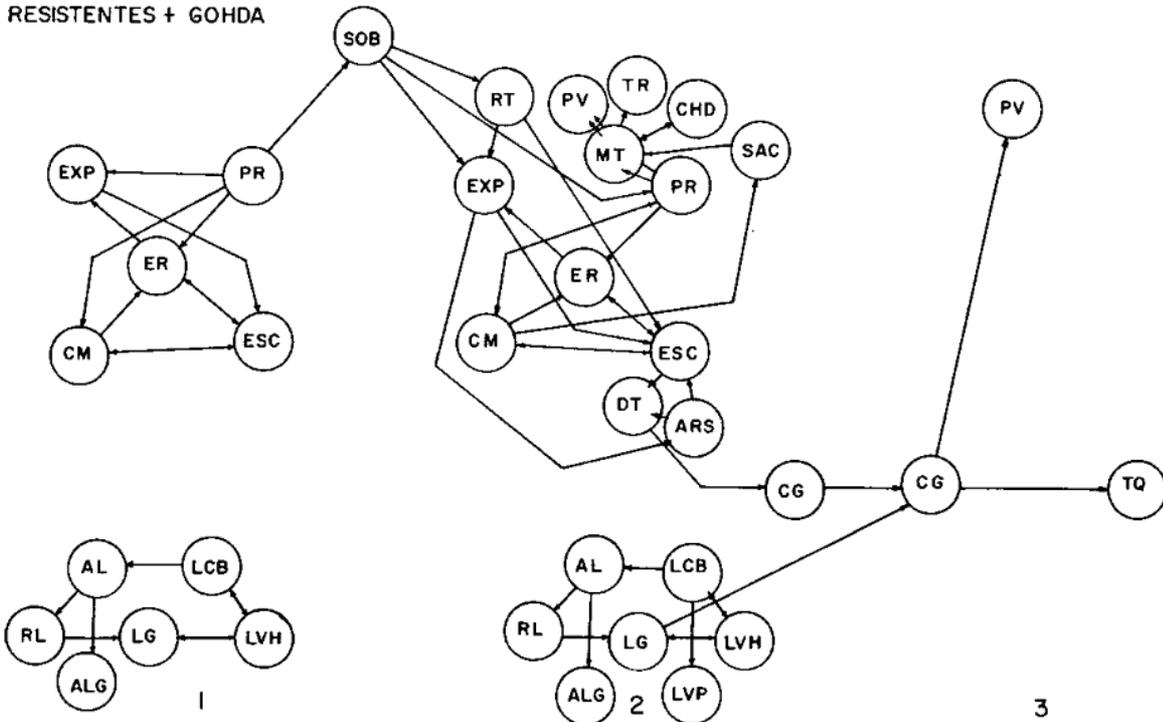


FIGURA 5: Secuencias comportamentales presentadas por animales sometidos a estimulación acústica y que presentan patrón de resistencia (R), y han sido inyectados con 60HDA en la *substantia nigra* izquierda. La nomenclatura corresponde a la de la figura 1.

En la fase de estimulación se presentó el sobresalto al introducirse el sonido, pero luego se instaló nuevamente un patrón de exploración con actividades de la categoría de automatismos faciales. Los animales fueron estimulados durante uno y medio minutos, pudiendo presentar inclusive como actividad automática los ítems de la categoría de autolimpieza. Al retirarse el estímulo (post-estimulación), congelaron presentándose taquípeicos.

A pesar de que la inyección de 60HDA en la *substantia nigra compacta* produce asimetrías cerebrales claras, ligadas fundamentalmente a depleción de Dopamina (D.A.) estriatal ipsilateral (31), la ejecución de manifestaciones funcionales de esa asimetría es mucho más evidente con la inyección de agonistas dopaminérgicos indirectos (tipo Anfetamina), o directos (tipo Apomorfin). Nuestra intención de demostrar posible función nigro-estriatal alterada en las C.A., inducible por el sonido en la elaboración de la fase prokursiva en animales, parece estar comprometida por los factores reales involucrados en su comprobación. Primero, inyectamos 60HDA unilateral, lo que

puede producir degeneración nigro-estriatal ipsilateral. Esperaríamos una acción dominante contralateral (lado intacto) (15), o como lo mencionan estos autores una dominancia ipsilateral por hipersensibilidad por desnervación. Si esta dominancia existe, no es posible demostrarlo por su inducción audiogénica. De otro lado, inyectamos 60HDA sin ningún agente antioxidante, ya que el que usualmente es utilizado el ácido ascórbico, se ha demostrado que produce tantos efectos neurotóxicos como la misma 60HDA (32). Sin embargo, esto nos deja la duda de si la 60HDA sufrió oxidación por exposición al medio ambiente. Un nuevo grupo de animales colocando intracerebralmente 60HDA y ácido ascórbico y un control de sólo ácido ascórbico están siendo evaluados. Los animales que recibieron inyecciones de salina, no presentaron modificaciones significativas.

4. Efectos de la lesión electrolítica unilateral en la *substantia nigra reticulata* (5 mA x 10 seg), contralateral a la inyección de 60HDA; sobre la sensibilidad audiogénica de ratas R.

La figura 6 ilustra las secuencias comportamen-

RESISTENTES + LESION
EN S.N.R.

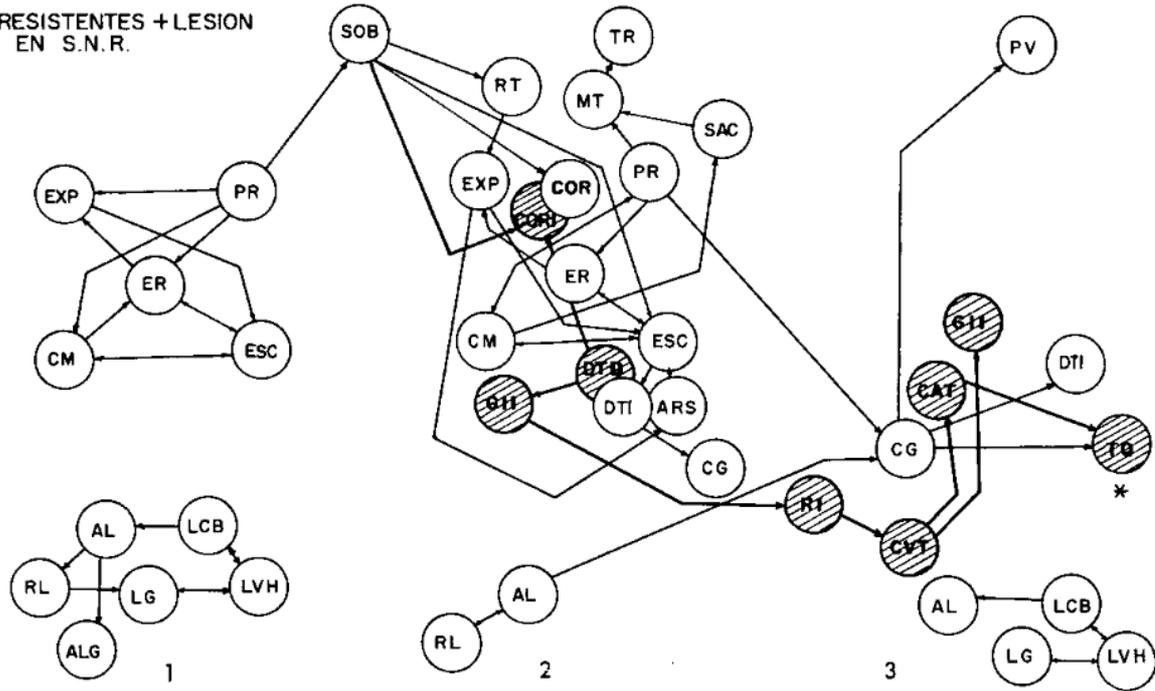


FIGURA 6: Secuencias comportamentales presentadas por animales sometidos a estimulación acústica y que presentan patrón de resistencia (R), han sido inyectados con 60HDA en la *substantia nigra* izquierda y luego han recibido lesión electrolítica en la *substantia nigra* derecha (Animales de la figura 5). La nomenclatura es idéntica a la de la figura 1. Los patrones que aparecen en círculos rayados y con flechas más acentuadas corresponden al animal No. 13, que fue el único que alcanzó la fase tónica.

tales observadas en los animales R sometidos inicialmente a inyección de 60HDA (*s.nigra* izquierda) y después a la lesión electrolítica en la *s.nigra reticulata* derecha (N = 6).

Como en el experimento anterior los animales mantienen en la pre-estimulación los comportamientos de las grandes categorías de exploración y autolimpieza, lo que los hace indistinguibles de los otros grupos.

Al introducirse el estímulo acústico el sobresalto continúa siendo el denominador común. A pesar de la presencia nuevamente de comportamientos exploratorios y algunos automatismos faciales y automatismos de autolimpieza, la gran mayoría de los animales presentan asimetrías posturales, generalmente izquierdas, expresadas tanto en doblamientos tónicos del cuerpo (DT), como en corridas y giros. Principalmente un animal presentó este patrón, sobre todo continuando hasta la elaboración de convulsiones tónicas. En la fase de estimulación y después del estímulo, presentó giros estereotipados hacia el lado derecho y caídas atónicas violentas.

En la figura 6, aparece discriminada esta secuencia, superpuesta al patrón general de los otros animales. La dominancia de los giros en la fase C1 fue completamente izquierda, lo mismo que en la fase C3 que precede a CVT y que inclusive continúa después de la fase tónica.

Evidentemente que en la inmovilidad post-ictal, este animal presentó franca asimetría izquierda, pérdida de los reflejos de antinocicepción y de enderezamiento. Aunque continuó realizando giros y la fase tónica después de retirado el estímulo, no presentó convulsiones clónicas. La posibilidad de haber lesionado la *substantia nigra reticulata*, origen de neuronas gabaérgicas y proyección a núcleos del tálamo o del tallo cerebral (33), con preservación de cuerpos celulares dopaminérgicos, (*s. nigra compacta*), que son más dorsales, puede explicar la mayor eficacia en producir alteraciones ligadas a sensibilidad epiléptica, que las lesiones inducidas por 60HDA. El mayor involucramiento de la *substantia nigra reticulata* (gabaérgica) y no de la *substantia nigra compacta* (dopaminérgica) en el fenómeno epiléptico se ha demostrado recientemente. (McNamara et al, en prensa). Aun-

que resulta difícil de evaluar, tanto la lesión en la nigra compacta por 60HDA, como la lesión de la *S. nigra reticulata*; preservarían los cuerpos celulares de DA del lado derecho. Si esto es cierto, y debe comprobarse histológicamente, explicaría de manera coherente las asimetrías y los giros inducidos por el sonido, cuando en su gran mayoría son contralaterales a la dominancia que ejercerían esos cuerpos celulares intactos. En nuestro caso los animales controles, que recibieron lesión ficticia no manifestaron alteraciones de comportamiento general ni asimetrías posturales.

La interacción de GABA y DA a nivel de la *substantia nigra* y en general del sistema extrapiramidal ya ha sido demostrada. Particularmente, Melis & Gale, (34), la refieren a la proyección nigro-tectal (colículo superior). Como quiera que hemos demostrado que la lesión unilateral de la *substantia nigra* induce asimetrías y promueve sensibilidad audiogénica en ratas resistentes (22), y Willott & Lu, (9), han demostrado que la lesión bilateral del colículo superior elimina las crisis audiogénicas en ratones genéticamente sensibles (DBA/2J), los presentes resultados pueden referirse a los mismos circuitos aquí mencionados. Nuestra línea de investigación por consiguiente continua en esta perspectiva, sobre todo porque existe una buena correlación entre actividad gabaérgica (12, 13, 35), actividad dopaminérgica (36) y sensibilidad audiogénica.

Tal vez el papel de GABA sea más importante como anticonvulsivo endógeno, si lo comparamos con DA que podría comportarse como un neuromodulador, tal y como parecen actuar los neuropéptidos, cuyo papel en estos circuitos parece ser también importante ya que Schreiber (37) demostró que Nalaxone, potente antagonista de opiáceos, aumenta la sensibilidad audiogénica de ratones.

5. Efectos de la inyección de anfetamina (i.p) (3 mg/kg), como "test" de verificación pre-histológica de asimetrías cerebrales extrapiramidales.

Con el fin de evaluar pre-histológicamente la existencia de posibles asimetrías extrapiramidales, ligadas a la inyección de 60HDA o a las lesiones electrolíticas en la *S. nigra* controlateral, fue inyectada sistemáticamente anfetamina en los animales controles y experimentales.

La tabla 2 ilustra los resultados del conteo del número de giros, tanto para la izquierda como para la derecha, presentados por los animales en los 30 minutos siguientes a la inyección de 3 mg/kg de p-cloro-anfetamina (NIMH-USA). Quince minutos antes de la inyección de anfetamina, los animales recibían aproximadamente 0.5 ml de solución salina 0.9% (i.p) y su comportamiento general era evaluado en la caja de estimulación. En estos primeros 15 minutos, los animales emiten los comportamientos normales de exploración y autolimpieza, además de asumir posturas como acostado, extendido o eventualmente enrollado. Sin embargo, no demuestran ningún tipo de asimetría postural y no emiten comportamientos de giros. Escala = 0, No. giros = 0.

La tabla 2 ilustra la franja de 0-15 minutos y 15-30 minutos después de la anfetamina. Obsérvese, en las dos franjas, una clara dominancia direccional, medida como índice de asimetría individuales y promedio. Su tendencia es claramente izquierda, lo que corresponde a una asimetría contralateral al lugar de la lesión electrolítica (derecha) o contralateral al lado intacto dopaminérgico nigro después de la inyección de 60HDA (izquierda). Los valores del índice de asimetría promedio son de 98.24% (izquierdo) para 0-15 minutos de la anfetamina y 98.94% (izq) para 15-30 minutos de la anfetamina.

Las escalas de comportamiento de giros fluctúan entre 1 y 4, siendo estos últimos animales los que mayor actividad asimétrica, carreras y giros presentaron con la estimulación acústica, después de lesión electrolítica.

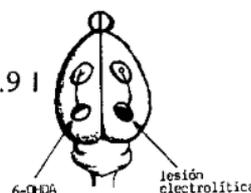
Sin embargo, las escalas de los animales sometidos a lesión ficticia o inyección de salina no presentaron índices mayores de dos, a pesar de que, en algunos casos, presentaron aumentado el número de giros. Igualmente, éstos no presentaron actividad audiogénica aumentada después de la lesión ficticia en la *substantia nigra reticulata*.

Más específicamente, la tabla 3 ilustra el análisis de asimetrías para los animales que recibieron solución salina 0.9% en la *S. nigra* compacta (control de 60HDA), o lesión ficticia 0.5 mm arriba de la *s. nigra reticulata* contralateral.

A diferencia de los animales con lesión, (60 HDA o electrolítica), los animales presentaron gi-

TABLA 2. Número y dirección de los giros de animales con lesión electrolítica derecha y 6 OHDA izquierda, inyectados con amfetamina 3 mg/kg (i.p), después de 15 minutos de inyección de solución salina, 0.9 % (i.p).

Animal	(0 -15')			(15' - 30')			
	GII	GID	I.ASS%	GII	GID	I.ASS%	Escala
13	25	0	100 I	90	0	100 I	4
12	2	0	100 I	11	1	91.71	1
8	1	1	50 I	17	2	89.5 I	1
9	34	0	100 I	73	1	98.6 I	2
7	46	0	100 I	137	0	100 I	4
18	3	1	75 I	44	0	100 I	4
TOTAL	111	2		372	4		
\bar{X}	18.5*	0.33	98.2 I	62*	0.66	98.9 I	
D.S.	17.6	0.471		43.74	0.745		
E.S.	7.18	0.192		17.85	0.304		



GII: Giros izquierda; GID: Giros derecha; I: Izquierdo; D: Derecho; I. ASS(%) = Índice de dominancia o asimetría (24); Escala = Severidad de la rotación o giros (25); D.S: Desviación estándar; E.S.: error estándar. *Diferencia estadísticamente significativa. Diferencias entre medias mayor que 2 veces el cálculo del error estándar de la diferencia entre medias.

ros en los primeros 15 minutos después de la amfetamina tanto en dirección derecha como izquierda. A pesar de que hay claras diferencias en asimetrías individuales, el grupo como un todo (N = 10) no presenta un patrón promedio de asimetría. Los valores de 66.31% (izquierda) para 0-15 minutos de amfetamina y 60.30% (izquierda) para 15-30 minutos de amfetamina, están muy por debajo del 75% o valor mínimo indicativo de asimetría (24). Aunque no fue hecho énfasis en este aspecto los animales inyectados con amfetamina, independiente de su condición previa (lesiones o no), presentan por efecto de la droga manifestaciones estereotipadas típicas, como exploración y posturas erectas, aunque estas últimas están un poco comprometidas, no sólo por los giros del animal, sino por la presentación de movimientos fuertes latero-laterales de la cabeza, nuca y porción anterior del tronco ("pivot"), sino también por manifestaciones concomitantes como arrastrarse o extenderse en el piso de la caja de observación.

Finalmente, la figura 7 resume estos resultados ilustrando el número promedio total de giros \pm

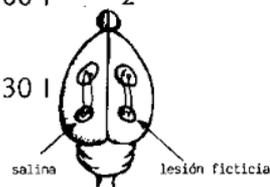
error estándar, (derechos + izquierdos) producidos después de tratamiento con solución salina (0-15 minutos), amfetamina 3 mg/kg (0-15 minutos), amfetamina 3 mg/kg (15-30 minutos).

Nuevamente se observa una clara diferencia entre los giros producidos por la amfetamina y su ausencia con la solución salina. Sin embargo, una clara diferencia, estadísticamente significativa, sólo se obtiene comparando los grupos 0-15 y 15-30 minutos de la amfetamina de los animales con lesión, cuando se comparan con los de lesión ficticia o inyección de solución salina. Esta diferencia es sobre todo evidente en la franja de 15-30 minutos (test T de Student $p < 0.05$).

Los resultados del tratamiento con amfetamina en conjunto son muy explicativos de la existencia de una asimetría producida por la lesión o por la inyección de 6OHDA. Sin embargo, a diferencia de la inducción farmacológica, la estimulación acústica, parece alcanzar a activar algunos de los circuitos aquí estudiados, pero que no permiten expresión completa en crisis audiogénicas. Aunque la lesión nigro-estriatal por 6OHDA produce

TABLA 3. Número y dirección de los giros de animales con lesión ficticia derecha y solución salina izquierda, inyectados con Anfetamina 3 mg/kg (i.p.), después de inyección de solución salina, 0.9% (i.p.).

Animal	GII	(0 - 15') GID	I.ASS%	GII	(15' - 30') GID	I.ASS	Escala
10	29	1	96.7 I	65	7	90.3 I	2
19	2	2	50	4	17	81 D	1
15	0	0	0	8	0	100 I	0
17	9	19	67.9 D	9	44	83 D	2
11	0	0	0	2	0	100 I	0
20	3	3	50	15	6	71.4 I	1
5	0	0	0	4	14	77.8 D	1
6	0	0	0	6	18	75 D	1
4	9	4	69 I	8	23	74.2 D	1
1	11	3	78.6 I	75	0	100 I	2
TOTAL	63	32		196	129		
\bar{X}	6.3	3.2	66.3 I	19.6	12.9	60.30 I	
D.S.	8.602	5.455		25.52	13.018		
E.S.	2.571	2.226		8.070	4.116		



GII: Giros izquierda; GID: Giros derecha; I: Izquierda; D; Derecha; I.ASS (%) = Índice de dominancia o asimetría; Escala: Severidad de la rotación o giros D.S.: Desviación estándar; E.S. : error estándar.

alteraciones neuroquímicas estriatales como la depleción de DA (31), es también cierto que puede producir aumentos estriatales de GABA (38), que pudiendo explicar anomalías como la rigidez típica del Parkinson, como aumento de un aminoácido inhibitorio tiene más características anticonvulsivas.

Por otro lado, la lesión nigrica reticular (electrolítica), podría justamente, al contrario de la anterior, disminuir los niveles de GABA, en esta estructura, cuyo papel anticonvulsivo endógeno ya ha sido demostrado (10). No sólo la presencia de asimetrías después de esta lesión, más las posibles convulsiones (ver figura 6), son coherentes con esa depleción de GABA. Los comportamientos de giros y las asimetrías posturales de por sí pueden ser la expresión de la activación o alteraciones, no sólo de las proyecciones nigro-estriatales de DA (31), sino principalmente en las lesiones nigricas reticulares, también de las propias proyecciones estriato-nigrales (39) o nigro-tectales (40) o nigro-reticulares o en general, cualquiera de los más importantes circuitos reverberantes del sistema extrapiramidal.

La relación entre ganglios basales y epilepsia cada vez es más evidente y nuestras investigaciones están situadas en esa línea. El análisis histológico promedio mostró lesiones que, en su gran mayoría, estuvieron bien realizadas en sentido anteroposterior y ventral, al situarse de lleno en la *substantia nigra reticulata* (láminas -5.3 mm Bregma). Sin embargo, en el sentido anterior fueron a veces lesionadas estructuras tales como zona incierta (Zi), y núcleos talámicos posteriores como los ventrales postero-medial y lateral. Igualmente se produjeron lesiones en el lemnisco medial y núcleos del cuerpo geniculado medial en sus porciones más mediales.

En algunos casos se lesionó completamente la *substantia nigra compacta*, el núcleo rojo y el área pre-tectal anterior. En otros se preservó la *substantia nigra compacta* más medialmente.

En la mayoría de los animales hay lesiones parciales del pedúnculo cerebral, en otros es total a la altura de -5.3 mm Bregma.

En las láminas más posteriores se observan lesio-

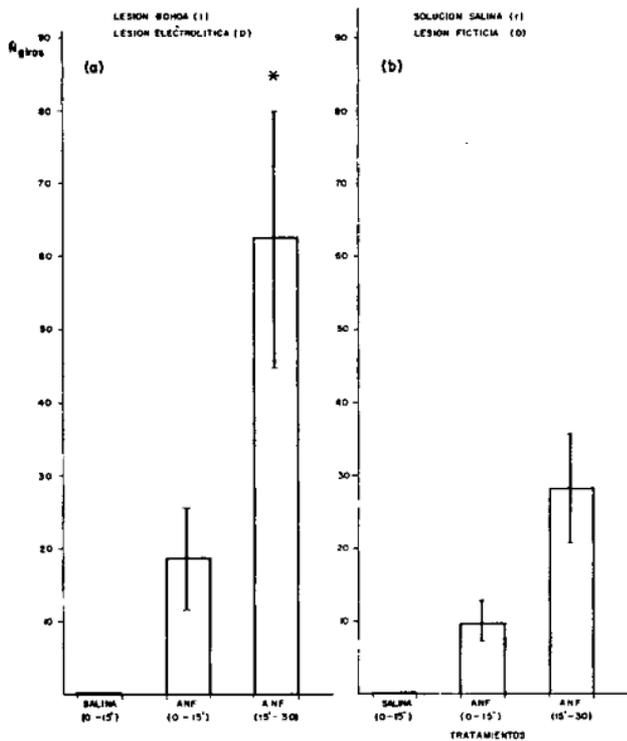


FIGURA 7: Comparación del número de giros emitidos por los animales sometidos: a) lesión química (60HDA), electrolytica, b) ficticia, o inyección de solución salina, después de ser inyectados con solución salina 0.9% i.p. y analizados 15 minutos, y después de inyección de p-cloroanfetamina (ANF) 3 mg/kg, i.p., y analizados 0-15' y 15-30'. N giros = número promedio de giros (izquierdos más derechos). *Diferencia estadísticamente significativa entre las medias, basado en el cálculo del error estándar de la diferencia entre medias.

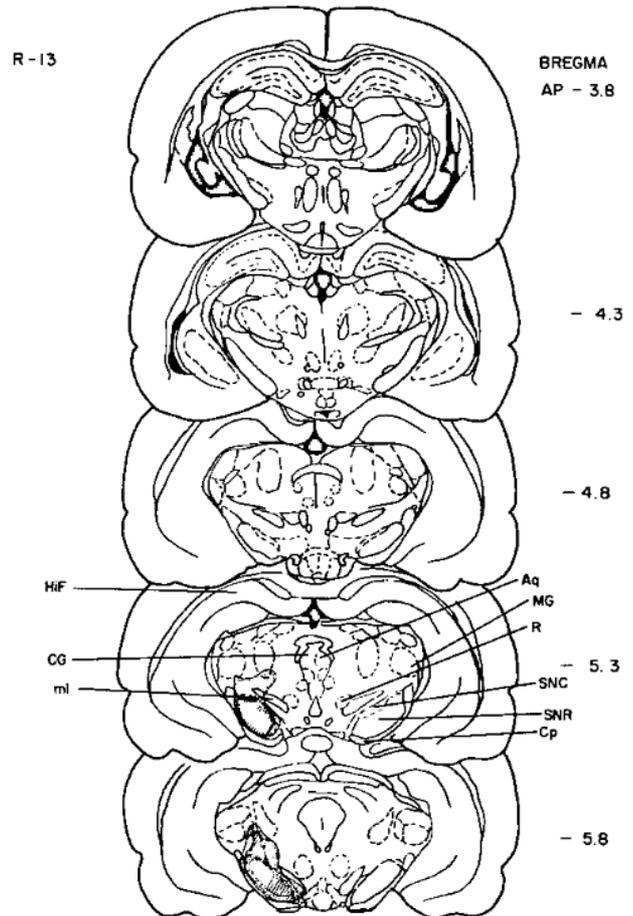
nes del brazo del colículo inferior y núcleo geniculado medial dorsal.

En general las lesiones fueron bien situadas en el sentido ventro-medial, aunque en algunos casos se extendieron más allá de lo esperado en sentido dorso-lateral. Ver figuras 8a y 8b, donde se ilustran cortes seriados antero-posterior (coronales), y un esquema parasagital, 8c, compuesto a partir de las series coronales, para cada animal.

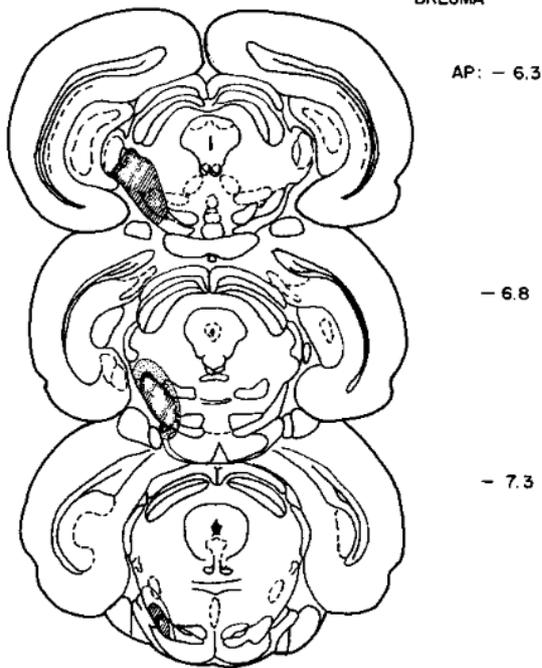
Con relación a la evaluación de la inyección de 60HDA, se tomaron cuatro láminas de animales inyectados con 60HDA en *substantia nigra* (lesión verdadera) y cuatro animales inyectados con solución salina (lesión ficticia), previamente coloreadas con violeta de cresilo, técnica de Nissl y en cada lámina se observaron 14 campos microscópi-

cos de gran aumento (1.000 X), haciéndose un recuento de celularidad neuronal.

Se sacaron promedios y medias de los promedios tanto de los controles como de los lesionados, encontrándose una diferencia entre las medias mayor que el doble del error estándar de la diferencia entre medias, por lo que estas son estadísticamente diferentes.



FIGURAS 8a y 8b: Secuencias histológicas de las lesiones electrolyticas en la *substantia nigra* de los animales del presente estudio. Los esquemas han sido elaborados a partir del Atlas de Paxinos & Watson (23). Los numerales corresponden a las coordinadas estereotáxicas: (mm posterior al bregma). (o) área de menor lesión. (●) área de mayor lesión.
 HIF: Formación hipocámpica; CG: Substancia gris periacueductal; Aq: acueducto; MG: Calculado Medial; R: Núcleo Rojo; SNC: *Substantia nigra compacta*; SNR: *Substantia nigra reticulada*; Cp: péndulo cerebral; ml: Lemnisco medial.



Los promedios de celularidad neuronal de controles y lesiones también fueron evaluados mediante la prueba de T-Student obteniéndose diferencia significativa, usando dos grados de libertad y $P < 0.05$.

Las dudas que han podido surgir con relación a si los efectos de asimetrías extrapiramidales son debidas a la lesión por 60HDA o por la lesión electrolítica se están tratando de aclarar con nuevos grupos experimentales que pretenden evaluar efecto de amfetamina después de 60HDA y efecto de amfetamina después de la lesión electrolítica. Igualmente se está estudiando un grupo de animales con 60HDA y ácido ascórbico como antioxidante.

Bibliografía

1. SCHLESINGER, K. & GRIEK, B.J. The genetics and biochemistry of audiogenic seizures-In: G. Lindzey and D.D. Thiessen (Eds). Contributions to Behavior Genetic Analysis: The mouse as a Prototype. Appleton, New York, 1970, pp. 219-257.

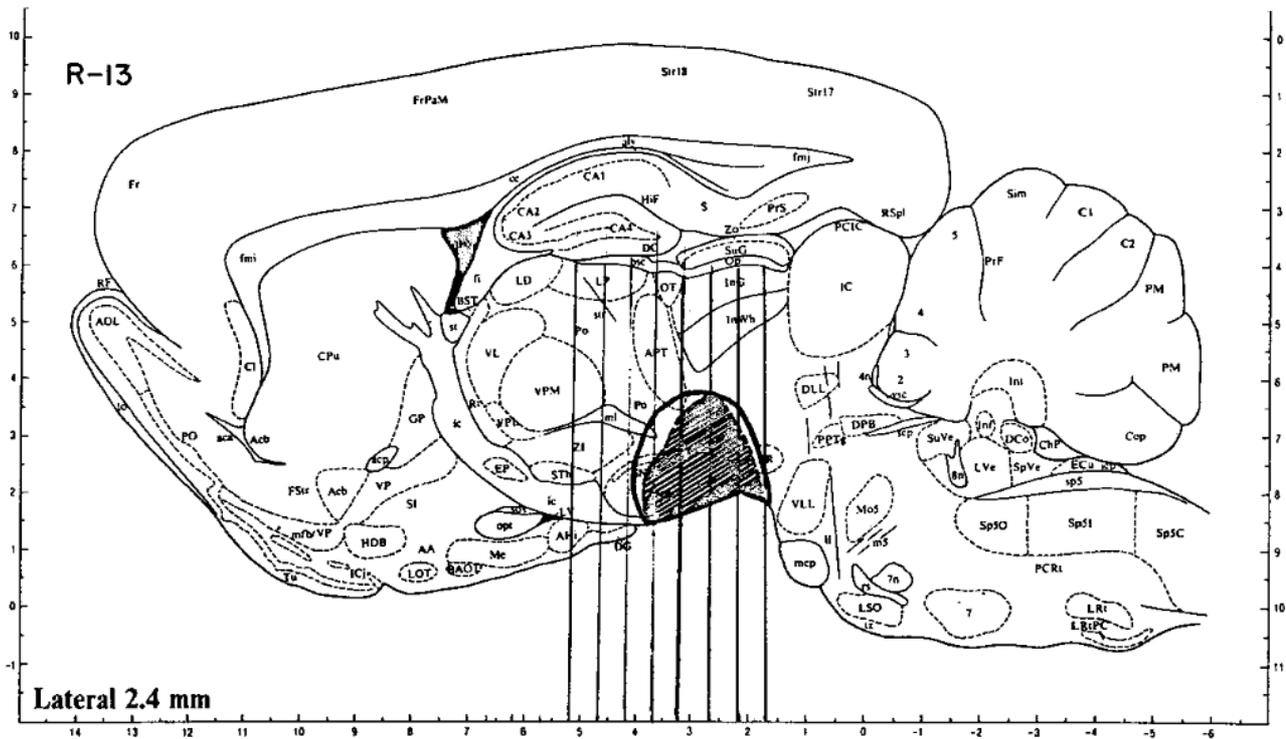


FIGURA 8c: Secuencias histológicas coronales de las figuras 8a, 8b, recolocadas en un plano sagital 2.4 mm lateral a la línea media. Cada una de las líneas verticales corresponde a un plano de las figuras transversales. El plano central de la lesión es -5.3 Bregma. La nomenclatura es igual a la de las figuras 8a y 8b.

2. SEYFRED, T.N. & GLASER, G.H. A review of mouse mutants as Genetic Models of Epilepsy. *Epilepsia*, 26(2): 143-150, 1985.
3. CONSROE, P., PICCHIONI, A., CHIN, L. Audiogenic Seizure Susceptible Rats. *Federation Proceedings*, 38: 2411-2416, 1979.
4. LÖSCHER, W. & MELDRUM, B.S. Evaluation of anticonvulsant drugs in genetic animal models of epilepsy. *Fed. Proceedings*, 43(2): 276-284, 1984.
5. SERVIT, Z. The role of subcortical acoustic centres (colliculi inferiores, laminae quadr) in seizure susceptibility to an acoustic stimulus and in symptomatology of audiogenic seizures in the rat. *Physiol. Behemoslov.* 9: 42-47, 1960.
6. KESNER, R.P. Subcortical mechanisms of audiogenic seizure. *Exp. Neurol.* 15: 192-205, 1966.
7. McCOWN, T.J., GREENWOOD, R.S., FRYE, G.D. & BREESE, G.R. Electrically elicited seizures from the inferior colliculus a potential site for the genesis of epilepsy? *Exp. Neurol.* 86:527-542, 1984.
8. MILLAN, M.H., MELDRUM, B.S. & FAINGOLD, C.L. Inducción of Audiogenic seizure susceptibility by focal infusion of excitant aminoacid or bicuculline into the inferior colliculus of Normal rats. *Exp. Neurol.* 91: 634-639, 1986.
9. WILLOTT, J.F. & LU, S.M. Midbrain Pathways of audiogenic seizures in DBA/2 mice. *Experimental Neurol.* 70: 288-299, 1980.
10. IADAROLA, M.J. & GALE, K. Substantia nigra: Site of anticonvulsant activity mediated by γ -aminobutyric acid. *Science*. 218: 1237-1240, 1982.
11. McNAMARA, J.O.; GALLOWAY, M.T.; RIGSBEE, L.C. & SHIN, CH. Evidence implicating substantia nigra in regulation of kindled seizure threshold. *J. Neurosc.* 4(9): 2410-2417, 1984.
12. GONZÁLEZ, L.P. & HETTINGER, M.K. Integral muscimol suppresses ethanol withdrawal seizures. *Brain Res. (Amsterdam)*, 298(1): 163-166, 1984.
13. FRYE, G.D., McCOWN, T. J. & BREESE, G.R. Differential sensitivity of Ethanol withdrawal signs in the rat to γ -Aminobutyric Acid (GABA) mimetics: Blockade of Audiogenic seizures but not forelimb tremors. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 226(3): 720-725, 1983.
14. BROWNING, R.A.; NELSON, D.K.; MOGHARREHAN, N., JOBE, P.C. & LAIRD II, H.E. Effect Of Midbrain and Pontine Tegmental lesions on audiogenic seizures in genetically-prone rats. *Epilepsia*, 26(2): 175-183, 1985.
15. UNGERSTEDT, U. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigrostriatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand.* 82: Suppl. 367:69-93, 1971.
16. PYCOCK, C.J. Turning behavior in animals. *Neuroscience* 5: 461-514, 1980.
17. GLICK, S.D.; JERUSSI, T.P. & ZIMMERBERG, B. Behavioral and neuropharmacological correlates of nigrostriatal asymmetry in rats. Pages 213-249 in S. Harnad, R.W. Doty, Goldstein, J. Jaynes, and G. Krauthamer. (eds). *Lateralization in the Nervous System*. Academic Press, New York, London, 1977.
18. REID, H.M. & COLLINS, R.L. Audiogenic seizure in mice: Asymmetries of the preconvulsive running pattern and subsequent seizure. *Animal Learning & Behavior*, 10(3): 321-324, 1982.
19. SABBATINI, R.M.E. Comportamento espécie-específico e estimulação eléctrica cerebral: uma abordagem neuroetológica e quantitativa. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, 1977.
20. LEHNER, P.N. *Handbook of Ethological Methods*. Garland Series in Ethology. Garland STPM Press. New York and London, 1979.
21. GARCÍA-CAIRASCO, N. Análise Neuroetológica e quantitativa de mecanismos neurais envolvidos nas convulsões audiogénicas no rato albino. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, 1982.
22. GARCÍA-CAIRASCO, N. & SABBATINI, R.M.E. Role of the substantia nigra in the elaboration of audiogenic seizures in the albino rat: A Neuroethological Study. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 16: 171-183, 1983.
23. PAXINOS, G. & WATSON, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Sydney, 1982.
24. MORGAN, S., STEINER, H. & HUSTON, J.P. Relationship between interhemispheric nigrostriatal projections and the direction of Rotational Behavior induced by Amphetamine. *Exp. Neurol.* 90: 149-161, 1985.
25. WAYLOR, R.J. & OLLEY, J.E., Modification of the behavioral changes induced by amphetamine in rat lesions in the caudate nucleus, the caudate-

putamen and globus pallidus. *Neuroparmacol*, 11:91, 1972.

26. IWAMOTO, E.T.; LOH, H.H. & WAY, E.L. Circling behavior in rats with 6-hydroxydopamine or electrolytic nigral lesions. *Europ. J. P. Pharmacol* 37: 339-356, 1976.
27. SIEGEL, S. *Nonparametric Statistics for the behavioral Sciences*. New York; McGrawHill, 1956.
28. CHAPMAN, AG.; HORTON, R.W. & MELDRUM, B. S. Anticonvulsant action of a 1,5-Benzodiazepine, Clobazam, in reflex. *Epilepsy*. *Epilepsia*. 19: 293-299, 1978.
29. SHENOY, A. K.; MIYAHARA, J.T.; SWINYAND, E.A. & KUPFERBERG, H.J. Comparative Anticonvulsant activity and neurotoxicity of Clobazam, Diazepam, Phenobarbital and Valproate in mice and rats. *Epilepsia*, 23:399-408, 1982.
30. ROBERTSON, H.A. Audiogenic seizures: increased benzodiazepin receptor binding in a susceptible strain of mice. *Europ. J. Pharmacol*. 66:249-252, 1980.
31. UNGERSTEDT, U. & ARBUTHNOTT, G.W. Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain. Res.* 24:485-493, 1970.
32. WADDINGTON, J.L. & CROW, T.J. Drug-induced rotational behaviour following unilateral intracerebral injection of saline-ascorbate solution: neurotoxicity of ascorbic acid and monoamine-independent circling. *Brain. Res.* 161:371-376, 1979.
33. DICHIARA, G.; PORCEDDU, M.L.; MULAS, M.L. & GESSA, G.L. Substantia nigra as an out-put station for striatal dopaminergic response, role of a GABA-mediated inhibition of pars reticulata neurons. *Naunym. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 306:155-159, 1979.
34. MELIS, M.R. & GALE, K. Effect of Dopamine Agonists on γ -Aminobutyric Acid (GABA) turnover in the superior colliculus: Evidence that nigrothal GABA projections are under the influence of Dopaminergic transmission. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 226 (2): 425-431, 1983.
35. SCHECHTER, P.J.; TRANIER, Y; JUNG, M.J. & BOHLEN, P. Audiogenic seizure protection by elevated brain GABA concentration in mice: effects γ -acetylenic GABA and γ -vinyl GABA, two irreversible GABA-T inhibitors. *Europ. J. Pharmacol.* 45:319-328, 1977.
36. BOGGAN, W.O. & SEIDEN, L.S. Dopa reversal of reserpine enhancement on audiogenic susceptibility in mice. *Physiol. & Behav.* 6:215-217, 1971.
37. SCHREIBER, R.A. The effect of naloxone on audiogenic seizures. *Psychopharmacology (Berlin)*, 66: 205-206, 1979.
38. TANAKA, Y; NIJIMA, K; MIZUNO, Y. & YOSHIDA, M. Changes in γ -Aminobutyrate, Glutamate, Aspartate, Glycine, and Taurine Contents in the striatum after unilateral Nigrostriatal lesions in rats. *Exp. Neurol*; 91: 259-268, 1986.
39. WASZCZAK, B.L.; HUME, C. & WALTERS, J.R. Supersensitivity of substantia nigra pars reticulata neurons to Gabaergic drugs after striatal lesions. *Life Sciences* 28: 2411-2420, 1981.
40. IMPERATO, A; PORCEDDU, M.L.; MORELLI, M.; FAA, G.; DICHIARA, G. Role of dorsal mesencephalic reticular formation and deep layers of superior colliculus as out-put stations for turning behavior elicited from the substantia nigra pars reticulata. *Brain. Res.* 216:437-443, 1981.

Agradecimientos:

Al grupo de estudiantes de Neurociencias de la Facultad de Salud, quienes con su entusiasmo han apoyado estos experimentos. Héctor Triviño Santos hace parte de este grupo. A los señores Luis Antonio Díaz Rubio, Jesús Octavio Mantilla por su colaboración en el manejo de los animales. Al señor Oswaldo Tarazona por los excelentes esquemas y dibujos. Al Instituto de Salud Mental (USA) que donó la anfetamina, imipramina, 60HDA, usadas en este trabajo. A HOECHST-IBERICA que gentilmente donó el Clobazam. A la señora Marlene de Corzo por su excelente trabajo mecanográfico.

Este trabajo hace parte del Proyecto "Aspectos Neurobiológicos de Modelos Experimentales de Epilepsia". Colciencias-BID, Cod 1102-05-21-85.