

Neuroquímica de la epilepsia, neurotransmisión inhibitoria y modelos experimentales: nuevas perspectivas

C. de Cabo-de la Vega ^{a,c}, P. Villanueva-Hernández ^{b,d}, A. Prieto-Martín ^a

THE NEUROCHEMISTRY OF EPILEPSY, INHIBITORY NEUROTRANSMISSION AND EXPERIMENTAL MODELS: NEW PERSPECTIVES

Summary. Aims. *The biological mechanisms of epilepsy allow pathophysiological patterns to be established which are essential for the selection of new therapeutic targets. The identification of these mechanisms also provides us with knowledge about the dynamics of neuronal arrangement, synaptogenesis, synaptic transmission and the receptors involved, and even the development of the brain.* Development. *Recent advances in neurobiology regarding the GABAergic system point to it as playing a leading role in the pathophysiology of epilepsy. We evaluate the different functional formats of the ionotropic (GABA_A) and metabotropic (GABA_B) gamma-aminobutyric (GABA) receptors. Although the main function posited is inhibitory, owing to the variability of their location, subunits and neuronal physiology/maturation they can even end up expressing excitatory functions. We discuss the anomalies in the GABAergic system identified in animal models with epilepsy and in brain tissue samples from patients submitted to surgery due to epilepsy. The mechanism inhibiting the activation of GABA receptors is performed by hyperpolarisation achieved by entry of Cl⁻ into the neuron –a process mediated by the cotransporter KCC2, typically expressed in the neuron. Mutations in the KCC2 gene produce mice that are susceptible to seizures. In some animal models it has been found that loop diuretics (furosemide) suppress seizures. Mutations in genes that code for ion channels have been identified in numerous epileptic syndromes and this pushes epilepsy ever further inside the broad group of disorders known as channelopathies. The origin could be polygenic in many cases.* Conclusions. *The GABAergic system seems to situate itself as the main system implicated in the pathophysiology of epilepsy, although conditions that have been considered to be idiopathic up till now could have a polygenic nature.* [REV NEUROL 2006; 42: 159-68]

Key words. Animal models. Channelopathies. Epilepsy. GABA. KCC2. Loop diuretics. Neurogenetics. Receptors.

INTRODUCCIÓN

La epilepsia es una patología cerebral que se manifiesta clínicamente por crisis de repetición (síntomas y/o signos neurológicos positivos). Afecta a aproximadamente al 1% de la población y representa un problema importante de salud, con evidente repercusión en la vida laboral y social del individuo que la padece. Desde el punto de vista clínico se han definido más de 40 tipos de epilepsia en los seres humanos [1]. Las crisis epilépticas se producen por disparos sincronizados desordenados de algunas poblaciones neuronales en el sistema nervioso central. La comunicación neuronal normal está regulada a través de un complejo equilibrio entre las señales excitadoras y las señales inhibitorias que reciben las neuronas. Si este equilibrio se altera, bien por sobreexcitación o bien por la reducción de la inhibición que regula los procesos de comunicación neuronal, pueden producirse descargas descontroladas de impulsos excitadores que conduzcan a una crisis epiléptica y que se manifiesten como síntomas positivos de la función asignada a ese grupo de

neuronas (crisis parcial) e incluso recluten nuevos grupos neuronales y alcancen el sistema reticular ascendente y descendente de manera que alteren la consciencia del individuo (generalización de la crisis).

El conocimiento de los mecanismos celulares y moleculares subyacentes a los distintos tipos de epilepsias es todavía limitado, pero parece probable que en un futuro cercano –a medida que este conocimiento se amplíe– se lleguen a identificar estos mecanismos biológicos con una mayor precisión. A día de hoy se considera que la susceptibilidad genética estaría implicada al menos en un tercio de la epilepsias humanas, aunque por ahora sólo en una pequeña fracción de ellas se han identificado sus orígenes genéticos. Actualmente se desconocen los factores que transforman una parte del cerebro normal en epiléptico, por lo que el estudio de animales que presentan epilepsia resulta muy útil para el conocimiento de la fisiopatología de este grupo de enfermedades.

CONSIDERACIONES ANATÓMICAS Y CELULARES

Las principales regiones del cerebro estudiadas como focos epilépticos han sido fundamentalmente la neocorteza y el hipocampo, que además son las regiones que suelen ser objeto de cirugía en el caso de epilepsias que no responden al tratamiento farmacológico. La amígdala ha recibido también una gran atención por parte de los experimentadores debido a su demostrada capacidad de transformarse en foco epileptogénico tras una estimulación repetitiva (generalmente eléctrica, pero también farmacológica o por estímulos sensoriales) o *kindling*. Existen, sin embargo, otras regiones susceptibles de transformarse en focos epileptogénicos, tales como los bulbos olfatorios [2] y el colículo inferior de la vía auditiva, especialmente implicado en las epilepsias inducidas por estímulos sonoros (epilepsias audiogé-

Aceptado tras revisión externa: 10.11.05.

^a Unidad de Investigación. ^b Sección de Neurología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Servicio de Salud de Castilla-La Mancha. ^c Área de Histología. ^d Área de Neurología. Departamento de Ciencias Médicas. Facultad de Medicina. Universidad de Castilla-La Mancha. Albacete, España.

Correspondencia: Dr. C. de Cabo de la Vega. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Unidad de Investigación. Hermanos Falcó, 37. E-02006 Albacete. Fax: + 34 967 243 952. E-mail: carlosd@sescam.jccm.es

El Dr. Carlos de Cabo de la Vega tiene un contrato de investigador del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS, Ref. 01/3018) y es investigador principal en los proyectos G03/056, PI 051653, PI 051683 (FIS) y 04048-00 (Consejería de Sanidad de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha). Ana Prieto Martín es beneficiaria de una beca para jóvenes investigadores de la Consejería de Sanidad de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (JI 03001).

© 2006, REVISTA DE NEUROLOGÍA

nicas) [3,4]. En el caso de las crisis de epilepsias desencadenadas por un estímulo sensorial, se ha propuesto que el foco epileptogénico original puede ser un núcleo de las vías sensoriales (p. ej., el colículo inferior de la vía auditiva) y que, tras repetidas crisis, este foco primario podría reclutar otras regiones situadas en zonas superiores del cerebro, que se transformarían en focos secundarios [3-6] de forma parecida a un fenómeno de 'corticalización' observado para otras disfunciones neurológicas (p. ej., la percepción del dolor en las causalgias). Lo que todas estas regiones parecen tener en común es que se trata de áreas de relevo y/o de procesamiento de información de otros núcleos del cerebro, muy interconectadas y con una citoarquitectura compleja, a menudo con neuronas organizadas en capas y circuitos internos regulados por interneuronas inhibitorias.

Una hipótesis siempre considerada en la fisiopatología de la epilepsia es que las alteraciones de los sistemas de inhibición son las responsables principales del comienzo de las crisis epilépticas. Más concretamente, se apunta al papel crucial que tendría una alteración de la inhibición procedente de las interneuronas que secretan el neurotransmisor inhibitorio ácido γ -aminobutírico (GABA). La diversidad existente entre estas interneuronas gabérgicas es un factor que empieza a tenerse en cuenta en el estudio de las alteraciones de los circuitos en epilepsia. Comienza a aceptarse que no se pueden estudiar las interneuronas gabérgicas del mismo modo que las neuronas glutamatérgicas, dado que existen subpoblaciones con sus propiedades biofísicas, electrofisiológicas y neuroquímicas específicas [7-11], y con un origen embrionario posiblemente distinto [12]. Incluso se postula que estos parámetros podrían variar para un mismo tipo según el estado fisiológico del cerebro e incluso verse alterado en situaciones patológicas de hiperexcitabilidad [9]. Además existen poblaciones que inervan preferentemente las dendritas (controlando las aferencias) y otras que contactan el soma (controlando la respuesta o potencial de acción) de las neuronas principales [8,13], y pueden presentar distinta vulnerabilidad a las crisis epilépticas [2,14-17]. Otros autores [8,9,18-20] han revisado esta heterogeneidad y es probable que refleje una división del trabajo dentro de esta población con el fin de desempeñar diversas funciones, tales como impedir la generación de un potencial de acción, detección de coincidencia, integración de señales [21,22], plasticidad sináptica [8,22-26], oscilaciones de los circuitos y sincronización epiléptica [9,27-29].

Los estudios anatomopatológicos que analizan las muestras de tejido procedentes de operaciones de pacientes que no responden al tratamiento con fármacos antiepilépticos han mostrado que algunas de estas epilepsias están asociadas a una cierta pérdida de interneuronas y a displasias corticales que afectan a la organización histológica de la zona reseca, y en particular se ha podido observar que las malformaciones parecen afectar a las interneuronas y a la neurotransmisión gabérgicas [13,30-38]. Los modelos animales que se han ensayado hasta el momento confirmarían los hallazgos en humanos [39-42], aunque cabe mencionar que la mayoría de ellos están basados en lesiones, por lo que pueden resultar menos adecuados para estudiar displasias producidas por otras causas (p. ej., causas genéticas o problemas de migración neuronal durante el desarrollo). Estos modelos no son capaces de reproducir todos los tipos de heterotopias ni los tipos celulares aberrantes descritos para algunas clases de displasias corticales en pacientes humanos, si bien algunos autores consideran que las células heterotópicas no serían actores principales en la generación de las crisis epilépticas [43].

Por otra parte, en numerosos casos, las muestras de pacientes operados no presentan deformaciones estructurales aparentes en un examen anatomopatológico convencional.

Tradicionalmente los estudios de inducción de la epilepsia por aplicación de pulsos eléctricos (*kindling*), administración de cainato, pilocarpina u otros agentes convulsionantes, muestran pérdidas de interneuronas, proliferación de células gliales, neurogénesis y proliferación (*sprouting*) de terminales axónicos con la aparición de circuitos excitadores recurrentes y la reorganización morfológica y funcional de los circuitos afectados, lo que a su vez contribuiría a la aparición de crisis epilépticas de forma reiterada o ininterrumpida, o estado epiléptico [2,44,45]. Estos estudios ayudan a explicar los acontecimientos subsiguientes a las primeras crisis o disfunciones y que hacen que las crisis se perpetúen; sus resultados presentan similitudes con estudios en pacientes humanos [43,45]. Sin embargo, al tratarse de una intervención experimental, podría argumentarse que no aportan información que nos permita conocer el origen primero de las epilepsias que ocurren de forma natural. No obstante, cabe señalar que, recientemente en un modelo de base genética, un ratón con delección (*knock out*) del gen *DLX*—que presenta la pérdida selectiva de dos de las subpoblaciones de interneuronas gabérgicas (las productoras de la proteína de unión al calcio calretinina y del neuropéptido somatostatina) [47]— lleva aparejadas crisis epileptogénicas con un registro del electroencefalograma (EEG) con presencia de punta-onda y proliferación de fibras musgosas en el estudio histológico. Estos hallazgos apoyarían la idea de que la pérdida de neuronas inhibitorias está en el origen de algunos tipos de epilepsia. Además, son coherentes con los conseguidos en otro modelo de rata obtenido por la estimulación eléctrica del hipocampo hasta provocar un estado epiléptico [48] en el que también se observó la disminución bilateral de la subpoblación productora de somatostatina acompañada de registro EEG con presencia de punta-onda y proliferación a su vez de fibras musgosas, aunque hubo además pérdida de interneuronas productoras de parvalbúmina.

Se ha postulado que la aparición o no de epilepsia tras sufrir algún tipo de traumatismo craneoencefálico (p. ej., debido a un accidente) podría tener un sustrato citoarquitectónico de origen genético [49,50]. Esta hipótesis está basada en la importancia inhibitoria del tipo de interneuronas gabérgicas en *chandelier* (en 'candelabro') presentes en la corteza y el hipocampo. Un axón de estas interneuronas es capaz de emitir colaterales hacia numerosas neuronas de proyección y establecer sinapsis directamente sobre la salida del axón de cada una de ellas (donde las consecuencias de la inhibición son máximas). El número de las neuronas en candelabro es comparativamente bajo, por lo que la pérdida de una parte de estas interneuronas supondría una reducción muy significativa de la inhibición en la región donde se produce la lesión. Dado que tras una lesión cerebral por traumatismo o isquemia se produce la muerte preferente de interneuronas, el individuo que genéticamente tuviera un menor número de interneuronas gabérgicas en candelabro podría tener una predisposición importante a la aparición de un foco epiléptico tras una lesión cerebral. De hecho, en ratas ha podido comprobarse que un impacto físico en la corteza—además de producir muerte neuronal en un área cortical cercana al impacto— produce con posterioridad la muerte de neuronas en el giro dentado e hilus del hipocampo ipsilateral, muchas de ellas con el aspecto y la localización que se corresponde con el de interneuronas gabérgicas [51]. Además, estos animales experimentan susceptibilidad

a agentes proconvulsivos e hiperexcitabilidad bilateral en el giro dentado acompañada de proliferación de fibras musgosas, alteraciones asociadas a una epilepsia del lóbulo temporal.

Por el contrario, la epilepsia también puede conllevar un incremento paradójico de la innervación gabérgica. En algunos trabajos en humanos y en modelos animales se ha encontrado un aumento en el número de sinapsis gabérgicas en las células granulares del giro dentado del hipocampo [52-55], en ciertos casos acompañado de un incremento en el número de receptores de GABA de tipo A sinápticos [53,54]. De acuerdo con estos hallazgos, se ha hallado recientemente en un modelo de epilepsia audiogénica genética en hámsteres un incremento de la innervación marcada con parvalbúmina (indicativa de innervación gabérgica) en varios núcleos de la vía auditiva [56]. Estas elevaciones de la actividad gabérgica en situaciones de epilepsia se interpretan como intentos de ajustes compensatorios por el exceso de excitabilidad, aunque también podrían explicarse como secundarios a cambios en la función gabérgica (de inhibitoria a excitadora), que se comentarán en la siguiente sección y que pueden estar en los orígenes de la hiperexcitabilidad del sistema.

Sin embargo, no todos los estudios confirman que la muerte celular y proliferación de axones tengan lugar siempre como consecuencia necesaria de *kindling* o crisis repetidas. En el modelo de *kindling* eléctrico se ha podido observar que estos daños son mayores en los animales que desarrollan epilepsia crónica progresiva, mientras que son apenas detectables en los animales que no desarrollan estado epiléptico [48]. García-Cairasco et al, en sus trabajos con una cepa de rata con epilepsia audiogénica tras *kindling* audiogénico observan registro EEG epiléptico y neurogénesis en el hipocampo, pero no proliferación de fibras musgosas ni muerte celular [5], aunque sí encuentran reorganización axonal y muerte celular en la amígdala [6]. Estos hallazgos ponen de manifiesto la complejidad de los mecanismos implicados en la generación de las epilepsias y plantean la cuestión de cómo se producen estos cambios en la reorganización sináptica en los procesos que no están asociados a muerte celular ni a la formación de sinapsis *de novo*. En un estudio reciente *in vitro* se estudiaron los efectos de la administración de cainato en una rodaja de hipocampo, en el hipocampo contralateral [57]. Tras varias administraciones de cainato, se produjo un foco epiléptico especular, en el hipocampo contralateral, a través de un proceso de potenciación a largo plazo (PLP) dependiente de NMDA. Es más, la acción del GABA pasó de inhibitoria a excitadora en el foco especular y los antagonistas de GABA bloqueaban las convulsiones. Estas observaciones –concordantes con otros trabajos–, que estudian cambios en la composición en subunidades del receptor de GABA de tipo A [58-60] y excitabilidad en las dendritas de células piramidales hipocámpales [61] por inducción, eléctrica y farmacológica, respectivamente, de la epilepsia en la rata, parecen sugerir que las primeras alteraciones surgen rápidamente, se hacen de larga duración tras unas cuantas convulsiones y no implican muerte neuronal.

NEUROTRANSMISIÓN GABÉRGICA Y EPILEPSIA

Debido a que múltiples experimentos han demostrado que las sustancias bloqueadoras de la neurotransmisión gabérgica generan convulsiones en tejidos de control y a que diversos potenciadores del sistema gabérgico tienen acciones antiepilépticas en pacientes humanos, se ha sugerido que la actividad gabérgica evita las convulsiones. Del mismo modo, también se ha podi-

do observar ampliamente que la activación de las sinapsis glutamatérgicas generan convulsiones [9]. Conjuntamente, estos hallazgos han llevado a la idea de que las convulsiones epilépticas responderían a un modelo simple en el que la inhibición y la excitación actuarían, respectivamente, como los frenos y el acelerador de un motor, y que tendría su reflejo electrofisiológico en los EEG con punta (excitación/despolarización)-onda (repolarización) característicos y definitorios de las crisis epilépticas en clínica.

Sin embargo, parece claro hoy día que este esquema –aunque muy intuitivo y fácil de comprender– es un modelo demasiado simplificado. En primer lugar, existen datos recientes que indican que la neurotransmisión gabérgica puede ser excitadora en condiciones basales, no sólo en el cerebro en desarrollo, sino también en el adulto epiléptico. Esta capacidad de cambiar de un modo de actuación inhibitorio a otro excitador es una característica fundamental de las sinapsis gabérgicas (no compartida por los receptores catiónicos glutamatérgicos (que no pasan a ser inhibitorios en condiciones patológicas) y está basada en su permeabilidad a los iones Cl^- de los receptores de GABA ionotrópicos postsinápticos de tipo A (rGABA_A). Cuando ocurre la apertura del canal iónico formado por los rGABA_A se produce un flujo de iones Cl^- y bicarbonato a través de la membrana en una proporción de 4 a 1 [62]. El potencial de reversión estimado para el bicarbonato (-10 mV) está mucho más despolarizado que el potencial medio de membrana en reposo (-70 mV), lo que significa que estos iones siempre salen del interior de la célula al abrirse el canal. Por el contrario, el potencial de reversión de los iones Cl^- está más cercano al potencial de membrana en reposo, lo que hace que el sentido del flujo de iones Cl^- pueda depender de la estructura, estado funcional, edad o estado patológico estudiados. Así, en preparaciones de cerebro adulto de rata se ha observado que en células piramidales de la capa V de la corteza, o en interneuronas del cerebelo, el potencial de reversión del Cl^- está más despolarizado que el potencial de membrana en reposo, por lo que su respuesta al GABA tiene un efecto despolarizante que incrementa la probabilidad de la aparición de un potencial de acción [63,64]. Hay que tener en cuenta también las interacciones de la activación de los rGABA_A con otros canales que pueden aparecer en la membrana neuronal. Así, si el potencial de reversión del Cl^- está más despolarizado que el potencial de membrana en reposo, la despolarización causada por la activación de los rGABA_A podría abrir canales operados por voltaje de bajo umbral. Si por el contrario el potencial de reversión del Cl^- está menos despolarizado que el potencial de membrana en reposo, la hiperpolarización resultante podría abrir canales I_h (canales catiónicos activados por hiperpolarización) [65,66], disminuir la activación de los canales operados por voltaje de bajo umbral o ‘desactivar’ canales operados por voltaje de bajo umbral previamente inactivados. Por otro lado, parece ser que la activación de los rGABA_A disminuye la resistencia de la membrana neuronal, lo que haría que la acción despolarizante de los receptores de AMPA glutamatérgicos que se activasen simultáneamente se viera disminuida. Este efecto parece tener gran importancia en el procesamiento de la información por la neuronas en el hipocampo y la corteza [67,68].

Por tanto, las consecuencias de la activación de los receptores de GABA_A dependen del estado funcional de la membrana neuronal y de su localización espacial en la neurona, por lo que la neurotransmisión gabérgica ha de contemplarse desde una perspectiva dinámica. En este contexto es necesario tener en

cuenta también la complejidad añadida por la propia estructura de los rGABA_A. Los receptores de GABA_A son moléculas proteicas oligoméricas, ensambladas a base de distintos tipos de subunidades polipeptídicas que, en número de cinco, conforman el receptor y delimitan el canal transmembrana preferentemente selectivo a iones Cl⁻ [69]. Para el receptor de GABA_A está bien documentada la existencia de subunidades α , β , γ y δ [70]. De ellas existen al menos 12 isoformas α_1 - α_6 , β_1 - β_3 y γ_1 - γ_3 . Parece que hay más subunidades, pero en la mayoría de receptores GABA_A sinápticos entran a formar parte subunidades α , β y γ [70,71]. La subunidad δ parece ser más propia de los receptores extrasinápticos [72]. Esta diversidad de subunidades permite el ensamblaje de receptores con distintas propiedades (afinidad por GABA, modulación alostérica, interacción con proteínas intracelulares, probabilidad de apertura del canal, cinética y conductancia) [73], lo cual redundando en un incremento considerable de la flexibilidad funcional y, por tanto, ciertos cambios en la composición de los receptores parecen afectar al funcionamiento de las redes neuronales [74,75]. Además, la composición del receptor de GABA_A varía en las distintas regiones del cerebro y en diferentes tipos celulares, y además se modifica en una misma región durante el desarrollo [76-82].

Existe una gran cantidad de información que demuestra que la función de los receptores y composición de los rGABA_A se encuentra alterada en la epilepsia del lóbulo temporal en seres humanos [59,83-88], así como su modulación alostérica por benzodiazepinas [89]. Existen modelos animales que permiten un análisis más dinámico de la evolución de los cambios neuroquímicos. En la mayoría de los casos, en los modelos se observan tres fases: inducción del estado epiléptico por estimulación o administración de fármacos, un período de latencia (donde no se observan crisis) y una fase crónica con aparición de crisis espontáneas. La composición del receptor de GABA_A parece verse alterada en las células granulares del giro dentado de forma diferencial en cada fase, lo que refuerza la noción de que se trata de un proceso dinámico [52,85,90]. Se ha observado que se incrementa el número de los receptores y su composición en subunidades se ve alterada, lo que hace que se incremente su sensibilidad a GABA y Zn²⁺ y se disminuya su afinidad por moduladores del tipo benzodiazepina de sitio 1, como el zolpidem [52,58,91]. Por el contrario, la sensibilidad a GABA disminuye en las células piramidales de la región CA1 del hipocampo. Estas modificaciones parecen tener lugar en los receptores sinápticos. Sin embargo, también se han encontrado otras modificaciones en receptores extrasinápticos que podrían tener grandes repercusiones en el procesamiento de la información por parte de la neurona [72,92,93]. En conjunto se admite que estas modificaciones supondrían un incremento de la susceptibilidad a las convulsiones.

También se postula que en este proceso la actividad mediada por los rGABA_A podría verse afectada por alteraciones debidas a factores intracelulares, como procesos de fosforilación o proteínas de anclaje de los receptores como la gefirina y la proteína asociada al receptor de GABA (GABARAP) [9]. Además, se ha propuesto que la regulación de las concentraciones de Cl⁻ intracelular, especialmente tras una intensa actividad gabérgica, depende de factores de tiempo, actividad y contexto [94,95]. También varía con la edad; a día de hoy se acepta ampliamente que las concentraciones de Cl⁻ intracelular son más altas en el cerebro inmaduro de todas las especies y en todas las regiones estudiadas [96].

La epilepsia también se han vinculado a posibles disfunciones en los receptores metabotrópicos de GABA de tipo B (rGABA_B) que median respuestas inhibitorias más lentas del GABA. Estos receptores están acoplados a la proteína G y se encuentran en una localización pre y postsináptica [97]. La estimulación de estos receptores genera potenciales inhibitorios postsinápticos importantes para el refinamiento de la neurotransmisión inhibitoria al aumentar la conductancia para el K⁺. Presinápticamente median la supresión de la liberación de GABA o de glutamato inhibiendo canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje. Se les atribuye un papel importante en el control de la epileptogénesis al haberse encontrado una sobreexpresión de los dos subtipos que presentan (GABA_B R1 y R2) en el hipocampo de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal [98] que se interpreta como un mecanismo compensatorio. Similares resultados se han obtenido en ratas tras convulsiones por inyección de ácido caínico [99]. Además, los ratones mutantes con delección (*knock out*) o truncamiento de alguno de los dos subtipos de rGABA_B presentan actividad epiléptica compleja que incluye ausencias, convulsiones generalizadas audiogénicas y espontáneas [100-102].

DESARROLLO Y EPILEPSIA

Receptores de GABA_A

La etiología de las epilepsias de tipo idiopático se ha relacionado frecuentemente con los sucesos que tienen lugar durante la maduración del cerebro. En este sentido podríamos distinguir, por un lado, las epilepsias atribuibles a problemas en la migración neuronal durante el desarrollo, que serían la causa de displasias, malformaciones y alteraciones de la histología de determinadas regiones del cerebro y, por otro, las epilepsias de un origen más netamente fisiológico. En este sentido cabe señalar que el cerebro en maduración parece tener una cierta tendencia a la hiperexcitabilidad [103,104] y ello parece deberse en parte a que los sistemas de neurotransmisión inhibitoria son más tardíos en alcanzar la madurez. Se conoce ampliamente la aparición de crisis convulsivas en los primeros años de vida que desaparecen con el tiempo sin consecuencias apreciables [104, 105], como es el caso de las convulsiones febriles en lactantes o de la epilepsia rolándica en niños. Una de las principales contribuciones a esta situación es la maduración de los sistemas gabérgico y glicinérgico. En roedores se sabe que tanto el GABA, como posiblemente la glicina, son excitadores o al menos tienen un efecto despolarizante al actuar sobre sus receptores específicos hasta haber transcurrido la primera semana de vida posnatal. Se postula que estas despolarizaciones darían lugar a una corriente de Ca²⁺ necesaria para la diferenciación y migración neuronal [106] y la reorganización sináptica [107]. A su vez, la estimulación gabérgica neonatal podría influir en la propia maduración de la composición en subunidades del receptor de GABA_A [108]. Es posible que algo análogo suceda también en el sistema glicinérgico y con sus receptores [109]. Cabe mencionar que, al nacer, también los receptores metabotrópicos de GABA_B postsinápticos se encuentran en un estadio inmaduro, pero no así los presinápticos, que resultan completamente funcionales [104]. La desensitización de los rGABA_B presinápticos produce descargas epileptiformes en el hipocampo neonatal de la rata [110], lo que sugiere que estos receptores –en contraste con los rGABA_A– serían los mediadores de la actividad inhibitoria y antiepileptogénica del GABA en estas etapas.

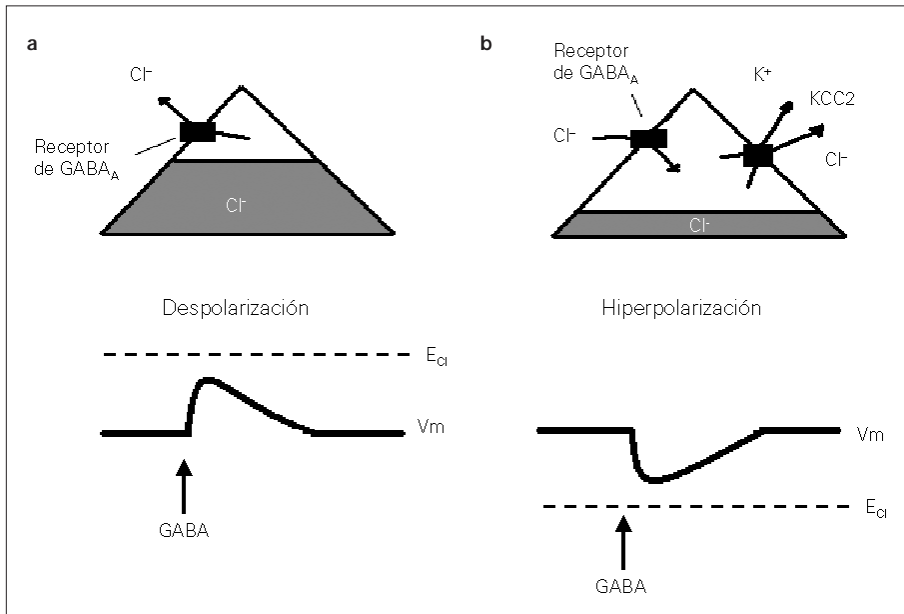


Figura 1. Consecuencias de la activación del receptor de GABA_A (γ -aminobutírico de tipo A): a) Durante las primeras etapas del desarrollo o en determinadas situaciones patológicas (posiblemente en ciertos tipos de epilepsia): la baja expresión de KCC2 hace que los niveles de Cl⁻ intracelular sean elevados, por lo que la apertura del canal del rGABA_A hace que los iones Cl⁻ salgan al espacio extracelular y produzcan una despolarización de la membrana; b) En la mayoría de las neuronas adultas existe una elevada expresión de KCC2 que extrae iones Cl⁻ del interior de la célula y mantiene sus niveles más bajos que en el espacio extracelular, por lo que la apertura del canal del rGABA_A hace que entren hacia el interior de la célula iones Cl⁻, y así da lugar a la hiperpolarización de la membrana neuronal. E_{Cl}: potencial de reversión del Cl⁻; V_m: potencial de membrana en reposo.

En relación con este tema resulta interesante el hecho de que –en rodajas de cerebro obtenidas de pacientes epilépticos– se haya observado que la administración de un antagonista del receptor de GABA_A bloquea la actividad epiléptica en curso en vez de potenciarla, como sucede en tejidos de control [111]. La despolarización mediada por GABA podría ser un factor fundamental en la ictiogénesis (desarrollo del foco epiléptico), aunque éste es un tema que no se ha abordado aún de forma directa. Por otra parte, este cambio de inhibidor a excitador en el tejido epiléptico se asemejaría a una involución hacia un estadio inmaduro del cerebro. Hay otras evidencias que apuntan en este sentido. Por ejemplo, se ha podido observar que la composición en subunidades del receptor de GABA_A en el hipocampo de pacientes operados de epilepsia del lóbulo temporal con esclerosis mesial difiere de la del adulto sano, y se asemeja más a la que presenta durante el desarrollo [86]. Esta regresión a una composición inmadura del receptor también se ha observado en algunos modelos animales de epilepsia tras someterlos a sensibilización por estimulación eléctrica subumbral progresiva (*kindling*) [59] o por lesión [112]. De forma convergente, el análisis del cerebro de cepas de ratas susceptibles y resistentes a *kindling* revela también que la cepa más susceptible presenta una composición de tipo inmaduro en la amígdala, la corteza y el núcleo endopiriforme en comparación con la del cerebro de una rata normal [113]. Electrofisiológicamente, las neuronas corticales de las ratas más susceptibles (con una composición más ‘inmadura’) presentan minicorrientes inhibitorias postsinápticas (IPSC, del inglés *inhibitory postsynaptic currents*) más pequeñas y de caída más lenta que las de las cepas de control, y resistentes a desarrollar epilepsia por *kindling* [92].

Cotransportador de K⁺/Cl⁻ KCC2

Como se expuso en el apartado anterior, la acción de GABA sobre el rGABA_A (al igual que sucede con la glicina sobre sus receptores) supone la apertura del canal para el ión Cl⁻ que delimita, de manera que permite una corriente de entrada de este ión hacia el interior de la célula que produce una hiperpolarización de la membrana sináptica. Esta corriente de entrada es posible gracias a la presencia del cotransportador de K⁺/Cl⁻ (KCC2) que mantiene los niveles de Cl⁻ intracelular por debajo de su potencial de equilibrio electroquímico mediante la energía del gradiente generado por la bomba de Na⁺/K⁺. El KCC2 es un cotransportador que se expresa sólo en neuronas [114]. Se encuentra en niveles bajos al nacer e incrementa su expresión durante el desarrollo posnatal. Esta subida de los niveles de KCC2 coincide con un descenso significativo de la concentración de Cl⁻ en las neuronas y con el cambio que experimenta el neurotransmisor GABA de ser excitador en las etapas tempranas a tener una acción

inhibidora según se alcanza la madurez (Fig. 1) [115]. En esta misma línea también se observó –en una primera cepa de ratones con una mutación del gen para KCC2 que hace que la proteína se exprese en niveles muy bajos– que los homocigotos manifestaron espasticidad, desarrollaron convulsiones generalizadas y murieron tras el nacimiento a las tres semanas. Los heterocigotos, que presentan una expresión algo mayor, mostraron predisposición a las convulsiones epilépticas [116]. Similares resultados se han observado en los homocigotos de una nueva cepa con una mutación menos drástica que expresó niveles no tan bajos de KCC2 y sobrevivió hasta la edad adulta [117]. Asimismo sufren una predisposición a convulsiones (acompañada de sordera) los ratones transgénicos de una cepa con una delección del gen para otro cotransportador del K⁺/Cl⁻ de la misma familia –KCC3 [118]–, que se expresa también en el cerebro, aunque con menor intensidad. Complementariamente, resultados preliminares indican una menor expresión de KCC2 en diversas regiones del cerebro en una cepa de hámsteres (GASH:Sal) que presenta susceptibilidad genética a crisis epilépticas por estimulación auditiva [119]. Curiosamente, en estos animales así como en otros modelos, se ha observado que, tras repetidas crisis [119-121] los niveles de KCC2 descienden, lo que de nuevo se asemejaría a lo observado en las primeras etapas del desarrollo.

Estos resultados llevan al planteamiento de cuestiones como el porqué de esta aparente regresión a un estado inmaduro de los circuitos tras el establecimiento de la epilepsia y si ello está relacionado –y cómo– con la susceptibilidad epileptogénica de los circuitos en desarrollo, o si una deficiente maduración de los sistemas implicados pudiera estar en el origen de algunos tipos de epilepsias o en el de la susceptibilidad de ciertos individuos a sufrir crisis epilépticas. El cerebro inmaduro presenta unas con-

diciones electroquímicas propias que, aunque tendentes hacia la hiperexcitabilidad [103,104] como 'efecto secundario', probablemente supongan la situación adecuada para el desarrollo de la neurogénesis y la maduración de la conectividad del sistema. Cabría la posibilidad de conjeturar que una región cerebral afectada por las crisis podría reaccionar adoptando un estado similar al inmaduro para protegerse, remodelándose neuroquímicamente y produciendo nuevos axones y conexiones, incluso nuevas neuronas y células gliales. Sin embargo, este intento de protección en muchas ocasiones solamente conseguiría generar una electroquímica y unos circuitos aberrantes, y perpetuar las crisis.

TRANSPORTE DE Cl^- , DIURÉTICOS DE ASA Y EPILEPSIA

También se ha sugerido la implicación del cotransportador de K^+/Cl^- en un modelo de síndrome epiléptico de Lance-Adams (mioclonías postanóxicas) en ratas, que causa un episodio de isquemia global tras el cual, si los animales quedan expuestos a una estimulación auditiva intensa, sufren convulsiones generalizadas. En este modelo, se ha observado que los niveles de ARN mensajero para KCC2 varían de acuerdo con la intensidad de las crisis convulsivas [122] y pudo comprobarse que la administración de ciertos diuréticos de asa (que actúan sobre el transporte de iones K^+ y Cl^- en las células de la pared del túbulo renal), como la furosemida, la bumetanida y el ácido etacrínico, es capaz de suprimir las convulsiones inducidas por la estimulación auditiva [123].

Estos resultados llevaron a pensar en los diuréticos de asa que actúan sobre transportadores de cloruro en el riñón como posibles compuestos antiepilépticos y a probar la hipótesis conjuntamente en otros modelos de rata y en humanos. Los diuréticos como la furosemida y la clortiacida fueron capaces de suprimir las convulsiones provocadas por una estimulación electroconvulsiva (*electroshock*) y por el agente convulsionante pentilentetrazol (PTZ); además, la administración de diuréticos como tiacidas, la furosemida y la aldactacida tuvo un efecto protector en un estudio epidemiológico con pacientes de primera crisis no provocada y controles [124,125]. En un estudio reciente en pacientes con epilepsia intratable neocortical y del lóbulo temporal mesial, una única inyección intravenosa de furosemida fue capaz de bloquear la actividad epiléptica cerebral (en algunos casos por completo) sin afectar la actividad electroencefalográfica normal [126], lo que ha renovado las esperanzas en el potencial terapéutico antiepiléptico de este tipo de diuréticos de asa. Las acciones de estos fármacos sobre los cotransportadores en epilepsia no están totalmente dilucidadas. Podrían actuar inhibiendo los cotransportadores de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ (NKCC) –que introducen cloruro en la célula– o los cotransportadores KCC2, que se postulan reversibles en situaciones de gran actividad neuronal [114,123].

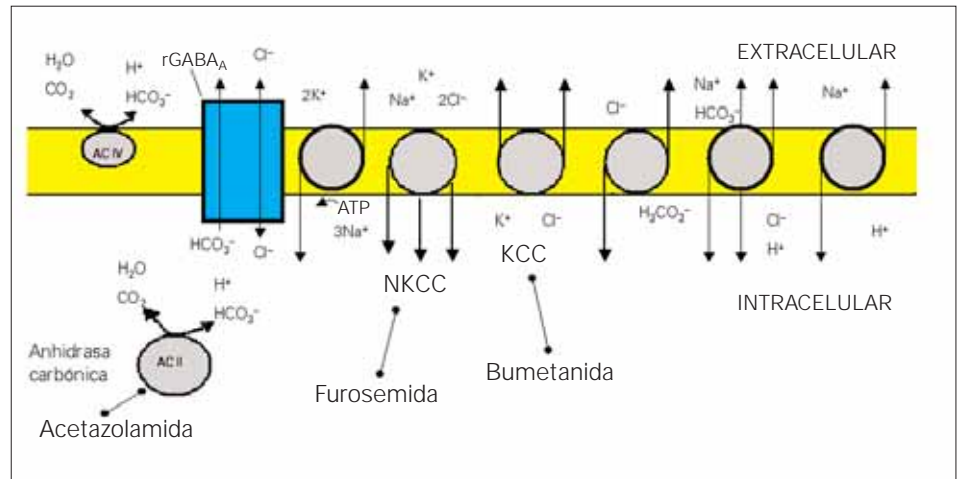


Figura 2. Esquema de los componentes principales del sistema de regulación del gradiente de Cl^- intracelular. Los diuréticos de asa como la acetazolamida, la furosemida y la bumetanida podrían tener efectos antiepilépticos por medio de sus acciones sobre la anhidrasa carbónica (AC), cotransportadores de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ (NKCC) y cotransportadores de K^+/Cl^- (KCC), respectivamente.

Mayor empleo en el campo del tratamiento de la epilepsia ha tenido otro tipo de diuréticos de asa, como la acetazolamida [127-129], cuyo mecanismo de acción conocido no implica una actuación directa sobre los cotransportadores de Cl^- , sino una inhibición de la actividad de la anhidrasa carbónica (AC) y, por tanto, sobre el metabolismo del bicarbonato (HCO_3^-). Sin embargo, los mecanismos de regulación del Cl^- están muy vinculados a los del control del bicarbonato, que contribuyen a un sistema de regulación iónica implicado en la excitabilidad de la neurona (Fig. 2), de forma análoga a como lo hacen en las células del túbulo renal [130]. Estudios recientes apoyan el potencial antiepiléptico de otros agentes que actuarían sobre elementos de este sistema de regulación. Por ejemplo, el fármaco antiepiléptico topiramato parece actuar potenciando el intercambiador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ e inhibiendo la AC en rodajas de hipocampo de rata [131]; la etoxizolamida (inhibidor de la AC) eliminaría los potenciales despolarizantes mediados por rGABA_A en un modelo de epilepsia en rodajas de hipocampo [132], mientras que el amiloride (inhibidor del intercambiador Na^+/H^+) tiene efectos antiepilépticos dependientes de dosis en rata *in vivo* frente a convulsiones originadas por una terapia electroconvulsiva o por la administración de PTZ [133].

LA EPILEPSIA COMO CANALOPATÍA Y PATOLOGÍA DE BASE GENÉTICA

La identificación reciente de determinantes genéticos (mutaciones puntuales, deleciones cromosómicas) en un número cada vez mayor de cuadros epilépticos –definidos de forma clínica y con un alto componente hereditario– está poniendo de manifiesto que muchos genes implicados en estas patologías codifican proteínas de la membrana neuronal que conforman alguna de las subunidades de un determinado canal iónico. Esta afectación sistemática en las anomalías funcionales del paso selectivo de determinado tipo de ión, que induciría cambios en la excitabilidad neuronal, encuadra claramente los síndromes epilépticos dentro de la consideración de canalopatías. Escapa del ámbito de esta revisión la enumeración sistemática de los más recientes hallazgos genéticos de los múltiples síndromes epilépticos para reafirmar

esta aseveración [105,134,135]. Sin embargo, sí conviene resaltar una serie de hallazgos que se constatan en la identificación de las alteraciones genéticas ligadas a cuadros epilépticos. En primer lugar, en un alto porcentaje de cuadros considerados hasta ahora como idiopáticos se objetivan anomalías en genes que codifican subunidades de canales de cloro, incluidas las alteraciones en el receptor de GABA –epilepsia generalizada idiopática, epilepsia mioclónica juvenil, ausencias típicas, algunos casos de convulsiones febriles plus (GEFS+)– [105,134,135], lo que refuerza el papel del sistema gabérgico en la fisiopatología común de la epilepsia. Cabe mencionar que los defectos genéticos identificados hasta ahora en epilepsias corresponden a formas monogénicas de la enfermedad. Sin embargo, la recurrencia intrafamiliar observada para los síndromes de epilepsia idiopática más comunes sugiere que habría varios genes implicados [136,137]. Como mencionamos anteriormente (véase ‘Consideraciones anatómicas y celulares’), la susceptibilidad genética de determinados individuos podría explicar la presencia o ausencia de crisis epilépticas de repetición ante lesiones cerebrales similares como traumatismos cerebrales o lesiones isquémicas [49,50].

CONCLUSIONES

Aunque los síndromes epilépticos muestren tener multiplicidad de causas, el sistema gabérgico y la regulación de los niveles de cloruro subyacente a la actividad gabérgica rápida parecen estar

en el origen de muchos de ellos, o bien se ven seriamente afectados en síndromes generados por otras alteraciones y contribuyen significativamente al cuadro patológico.

Los acontecimientos que se suceden tras la aparición de las primeras crisis y llevan a su cronicidad parecen ser sutiles inicialmente y desarrollarse con rapidez. Esto supone una dificultad añadida tanto para su estudio como para identificar la situación primera que originó la susceptibilidad en algunos casos (p. ej., cuando no hay una causa física o no hay una mutación conocida asociada). Sin embargo, algo que parece deducirse de lo observado es que, en ocasiones, algunas de las causas de la susceptibilidad y las consecuencias de la crisis parecen ir en el mismo sentido: una situación de inmadurez del sistema, especialmente de los mecanismos de inhibición.

Los estudios genéticos proporcionan nuevas dianas para el estudio de la epilepsia y el diseño de nuevos fármacos, pero aún quedan muchos aspectos por dilucidar. Los datos de segregación familiar de los genes implicados parecen sugerir que algunos síndromes serían poligenéticos.

El conocimiento de los mecanismos implicados en las crisis puede no sólo llevar a la generación de nuevos fármacos, sino también a encontrar nuevos usos a fármacos ya existentes (como podrían ser los diuréticos de asa). Para todos estos tipos de estudios la consecución de modelos animales cercanos a una situación de epilepsia espontánea similar a la humana proporcionará una ayuda inestimable.

BIBLIOGRAFÍA

1. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989; 30: 389-9.
2. Sayin U, Osting S, Hagen J, Rutecki P, Sutula T. Spontaneous seizures and loss of axo-axonic and axo-somatic inhibition induced by repeated brief seizures in kindled rats. *J Neurosci* 2003; 23: 2759-68.
3. Ross KC, Coleman JR. Developmental and genetic audiogenic seizure models: behavior and biological substrates. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24: 639-53.
4. García-Cairasco N. A critical review on the participation of inferior colliculus in acoustic-motor and acoustic-limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures. *Hear Res* 2002; 168: 208-22.
5. Romcy-Pereira RN, García-Cairasco N. Hippocampal cell proliferation and epileptogenesis after audiogenic kindling are not accompanied by mossy fiber sprouting or fluoro-jade staining. *Neuroscience* 2003; 119: 533-46.
6. Galvis-Alonso OY, Cortes De Oliveira JA, García-Cairasco N. Limbic epileptogenicity, cell loss and axonal reorganization induced by audiogenic and amygdala kindling in wistar audiogenic rats (WAR strain). *Neuroscience* 2004; 125: 787-802.
7. DeFelipe J. Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in the neocortex. *J Chem Neuroanat* 1997; 14: 1-19.
8. McBain CJ, Fisahn A. Interneurons unbound. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 11-23.
9. Cossart R, Bernard C, Ben-Ari Y. Multiple facets of GABAergic neurons and synapses: multiple fates of GABA signalling in epilepsies. *Trends Neurosci* 2005; 28: 108-15.
10. Hestrin S, Galarreta M. Synchronous versus asynchronous transmitter release: a tale of two types of inhibitory neurons. *Nat Neurosci* 2005; 8: 1283-4.
11. Hefft S, Jonas P. Asynchronous GABA release generates long-lasting inhibition at a hippocampal interneuron-principal neuron synapse. *Nat Neurosci* 2005; 8: 1319-28.
12. Xu Q, Cobos I, De la Cruz E, Rubenstein JL, Anderson SA. Origins of cortical interneuron subtypes. *J Neurosci* 2004; 24: 2612-22.
13. Marco P, Sola RG, Pulido P, Alijarde MT, Sánchez A, Ramón y Cajal S, DeFelipe J. Inhibitory neurons in the human epileptogenic temporal neocortex. An immunocytochemical study. *Brain* 1996; 119: 1327-47.
14. Buzsáki G. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 2002; 33: 325-40.
15. Cossart R, Dinocourt C, Hirsch JC, Merchán-Pérez A, De Felipe J, Ben-Ari Y, et al. Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci* 2001; 4: 52-62.
16. Meguro R, Lu J, Gavrilovici C, Poulter MO. Static, transient and permanent organization of GABA receptor expression in calbindin-positive interneurons in response to amygdala kindled seizures. *J Neurochem* 2004; 91: 144-54.
17. Sanon N, Carmant L, Emond M, Congar P, Lacaille JC. Short-term effects of kainic acid on CA1 hippocampal interneurons differentially vulnerable to excitotoxicity. *Epilepsia* 2005; 46: 837-48.
18. Maccaferri G, Lacaille JC. Interneuron diversity series: hippocampal interneuron classifications-making things as simple as possible, not simpler. *Trends Neurosci* 2003; 26: 564-71.
19. Monyer H, Markram H. Interneuron diversity series: molecular and genetic tools to study GABAergic interneuron diversity and function. *Trends Neurosci* 2004; 27: 90-7.
20. Markram H, Toledo-Rodríguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5: 793-807.
21. Pouille F, Scanziani M. Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science* 2001; 293: 1159-63.
22. Jonas P, Bischofberger J, Fricker D, Miles R. Interneuron diversity series: fast in, fast out, temporal and spatial signal processing in hippocampal interneurons. *Trends Neurosci* 2004; 27: 30-40.
23. Cohen I, Miles R. Contributions of intrinsic and synaptic activities to the generation of neuronal discharges *in vitro* hippocampus. *J Physiol* 2000; 524: 485-502.
24. Freund TF, Buzsáki G. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 1996; 6: 347-470.
25. Hoffman DA, Magee JC, Colbert CM, Johnston D. K⁺ channel regulation of signal propagation in dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Nature* 1997; 387: 869-75.
26. Miles R, Toth K, Gulyas AI, Hajos N, Freund TF. Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus. *Neuron* 1996; 16: 815-23.
27. Cobb SR, Buhl EH, Halasy K, Paulsen O, Somogyi P. Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature* 1995; 378: 75-8.
28. Klausberger T, Magill PJ, Marton LF, Roberts JD, Cobden PM, Buzsáki G, et al. Brain-state- and cell-type-specific firing of hippocampal interneurons *in vivo*. *Nature* 2003; 421: 844-8.
29. Whittington MA, Stanford IM, Colling SB, Jefferys JG, Traub RD.

- Spatiotemporal patterns of gamma frequency oscillations tetanically induced in the rat hippocampal slice. *J Physiol* 1997; 502: 591-607.
30. Mischel PS, Nguyen LP, Vinters HV. Cerebral cortical dysplasia associated with pediatric epilepsy. Review of neuropathologic features and proposal for a grading system. *J Neuroopathol Exp Neurol* 1995; 54: 137-53.
 31. Spreafico R, Pasquier S, Minotti L, Garbelli R, Kahane P, Grand S, et al. Immunocytochemical investigation on dysplastic human tissue from epileptic patients. *Epilepsy Res* 1998; 32: 34-48.
 32. Spreafico R, Tassi L, Colombo N, Bramero M, Galli C, Garbelli R, et al. Inhibitory circuits in human dysplastic tissue. *Epilepsia* 2000; 41 (Suppl 6): S168-73.
 33. Arnold S, Berthele A, Drzezga A, Töller TR, Weis S, Werhahn KJ, et al. Reduction of benzodiazepine receptor binding is related to the seizure onset zone in extratemporal focal cortical dysplasia. *Epilepsia* 2000; 41: 818-24.
 34. Bernardete EA, Kriegstein AR. Increased excitability and decreased sensitivity to GABA in an animal model of dysplastic cortex. *Epilepsia*. 2002; 43: 970-82.
 35. Sata Y, Matsuda K, Mihara T, Aihara M, Yagi K, Yonekura Y. Quantitative analysis of benzodiazepine receptor in temporal lobe epilepsy: [125I]flomazenil autoradiographic study of surgically resected specimens. *Epilepsia* 2002; 43: 1039-48.
 36. Roper SN, Yachnis AT. Cortical dysgenesis and epilepsy. *Neuroscientist* 2002; 8: 356-71.
 37. D'Antuono MD, Louvel J, Köhling R, Mattia D, Bernasconi A, Oliver A, et al. GABA_A receptor-dependent synchronization leads to ictogenesis in the human dysplastic cortex. *Brain* 2004; 127: 1626-40.
 38. Calcagnotto ME, Paredes MF, Tihan T, Barbaro NM, Baraban SC. Dysfunction of synaptic inhibition in epilepsy associated with focal cortical dysplasia. *J Neurosci* 2005; 25: 9649-57.
 39. Calcagnotto ME, Paredes MF, Baraban SC. Heterotopic neurons with altered inhibitory synaptic function in an animal model of malformation-associated epilepsy. *J Neurosci* 2002; 22: 7596-605.
 40. Najm I, Ying Z, Babb T, Crino PB, Macdonald R, Mathern GW, et al. Mechanisms of epileptogenicity in cortical dysplasias. *Neurology* 2004; 62 (Suppl 3): S9-13.
 41. Schwartzkroin PA, Roper SN, Wenzel HJ. Cortical dysplasia and epilepsy: animal models. *Adv Exp Med Biol* 2004; 548: 145-74.
 42. Arabadzisz D, Antal K, Parpan F, Emri Z, Fritschy JM. Epileptogenesis and chronic seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy are associated with distinct EEG patterns and selective neurochemical alterations in the contralateral hippocampus. *Exp Neurol* 2005; 194: 76-90.
 43. Tschuluun N, Wenzel JH, Käteba K, Schwartzkroin PA. Initiation and spread of epileptiform discharges in the methylazoxymethanol acetate rat model of cortical dysplasia: functional and structural connectivity between CA1 heterotopia and hippocampus/neocortex. *Neuroscience* 2005; 133: 327-42.
 44. Crespel A, Rigau V, Coubes P, Rousset MC, de Bock F, Okano H, et al. Increased number of neural progenitors in human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 2005; 19: 436-50.
 45. Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol* 2004; 73: 1-60.
 46. Arellano JI, Muñoz A, Ballesteros-Yáñez I, Sola RG, DeFelipe J. Histopathology and reorganization of chandelier cells in the human epileptic sclerotic hippocampus. *Brain* 2004; 127: 45-64.
 47. Cobos I, Calcagnotto ME, Vilaythong AJ, Thwin MT, Noebels JL, Baraban SC, et al. Mice lacking Dlx1 show subtype-specific loss of interneurons, reduced inhibition and epilepsy. *Nat Neurosci* 2005; 8: 1059-68.
 48. Gorter JA, Van Vliet EA, Aronica E, Lopes da Silva FH. Progression of spontaneous seizures after status epilepticus is associated with mossy fibre sprouting and extensive bilateral loss of hilar parvalbumin and somatostatin-immunoreactive neurons. *Eur J Neurosci* 2001; 13: 657-69.
 49. DeFelipe J. Chandelier cells and epilepsy. *Brain* 1999; 122: 1807-22.
 50. DeFelipe J, Arellano JI, Alonso L, Muñoz A. Neuropatología de la epilepsia del lóbulo temporal. Alteraciones primarias y secundarias de los circuitos corticales y epileptogenicidad. *Rev Neurol* 2002; 34: 401-8.
 51. Golarai G, Greenwood AC, Feeney DM, Connor JA. Physiological and structural evidence for hippocampal involvement in persistent seizure susceptibility after traumatic brain injury. *J Neurosci* 2001; 21: 8523-37.
 52. Gibbs JW III, Shumate MD, Coulter DA. Differential epilepsy-associated alterations in postsynaptic GABA_A receptor function in dentate granule and CA1 neurons. *J Neurophysiol* 1997; 77: 1924-38.
 53. Nusser Z, Hajos N, Somogyi P, Mody I. Increased number of synaptic GABA_A receptors underlies potentiation at hippocampal inhibitory synapses. *Nature* 1998; 395: 172-7.
 54. Otis TS, De Koninck Y, Mody I. Lasting potentiation of inhibition is associated with an increased number of gamma-aminobutyric acid type A receptors activated during miniature inhibitory postsynaptic currents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 7698-702.
 55. Bausch SB. Axonal sprouting of GABAergic interneurons in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav* 2005; 7: 390-400.
 56. 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 (GPG/Vall). *Epilepsia* 2005; 46: 1027-45.
 57. Khalilov I, Holmes GL, Ben-Ari Y. *In vitro* formation of a secondary epileptogenic mirror focus by interhippocampal propagation of seizures. *Nat Neurosci* 2003; 6: 1079-85.
 58. Brooks-Kayal AR, Shumate MD, Jin H, Rikhter TY, Coulter DA. Selective changes in single cell GABA_A receptor subunit expression and function in temporal lobe epilepsy. *Nat Med* 1998; 4: 1166-72.
 59. Sperk G, Furtinger S, Schwarzer C, Pirker S. GABA and its receptors in epilepsy. *Adv Exp Med Biol* 2004; 548: 92-103.
 60. Nishimura T, Schwarzer C, Gasser E, Kato N, Vezzani A, Sperk G. Altered expression of GABA_A and GABA_B receptor subunit mRNAs in the hippocampus after kindling and electrically induced status epilepticus. *Neuroscience* 2005; 134: 691-704.
 61. Bernard C, Anderson A, Becker A, Poolos NP, Beck H, Johnston D. Acquired dendritic channelopathy in temporal lobe epilepsy. *Science* 2004; 305: 532-5.
 62. Kaila K. Ionic basis of GABA_A receptor channel function in the nervous system. *Prog Neurobiol* 1994; 42: 489-537.
 63. Chavas J, Marty A. Coexistence of excitatory and inhibitory GABA synapses in the cerebellar interneuron network. *J Neurosci* 2003; 23: 2019-31.
 64. Gullledge AT, Stuart GJ. Excitatory actions of GABA in the cortex. *Neuron* 2003; 37: 299-309.
 65. Chen K, Aradi I, Thon N, Eghbal-Ahmadi M, Baram TZ, Soltesz I. Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat Med* 2001; 7: 331-7.
 66. Poolos NP. The h-channel: a potential channelopathy in epilepsy? *Epilepsy Behav* 2005; 7: 51-6.
 67. Pare D, Lang EJ, Destexhe A. Inhibitory control of somatodendritic interactions underlying action potentials in neocortical pyramidal neurons *in vivo*: an intracellular and computational study. *Neuroscience* 1998; 84: 377-402.
 68. Liu G. Local structural balance and functional interaction of excitatory and inhibitory synapses in hippocampal dendrites. *Nat Neurosci* 2004; 7: 373-9.
 69. Lerma J, Mora F, Sánchez-Prieto J. Sinapsis aminoacídicas y peptidérgicas. En Delgado JM, Ferrús A, Mora F, Rubia FJ, eds. *Manual de neurociencia*. Madrid: Síntesis; 1998. p. 231-48.
 70. Mehta AK, Ticku MK. An update on GABA_A receptors. *Brain Res Brain Res Rev* 1999; 29: 196-217.
 71. McKernan RM, Whiting PJ. Which GABA_A receptor subtypes really occur in the brain? *Trends Neurosci* 1996; 19: 139-43.
 72. Peng Z, Huang CS, Stell BM, Mody I, Houser CR. Altered expression of the delta subunit of the GABA_A receptor in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 2004; 24: 8629-39.
 73. Conley EC, William BW. The ion channel 'facts book' I. Extracellular ligand-gated channels. San Diego: Academic Press; 1996.
 74. Wang XJ, Buzsáki G. Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. *J Neurosci* 1996; 16: 6402-13.
 75. Traub RD, Whittington MA, Colling SB, Buzsáki G, Jefferys JG. Analysis of gamma rhythms in the rat hippocampus *in vitro* and *in vivo*. *J Physiol* 1996; 493: 471-84.
 76. Laurie DJ, Seeburg PH, Wisden W. The distribution of 13 GABA_A receptor subunit mRNAs in the rat brain. II. Olfactory bulb and cerebellum. *J Neurosci* 1992; 12: 1063-76.
 77. Wisden W, Laurie DJ, Monyer H, Seeburg PH. The distribution of 13 GABA_A receptor subunit mRNAs in the rat brain. I. Telencephalon, diencephalon, mesencephalon. *J Neurosci* 1992; 12: 1040-62.
 78. Laurie DJ, Wisden W, Seeburg PH. The distribution of thirteen GABA_A receptor subunit mRNAs in the rat brain. III. Embryonic and postnatal development. *J Neurosci* 1992; 12: 4151-72.
 79. Campos ML, de Cabo C, Wisden W, Juiz JM, Merlo D. Expression of GABA_A receptor subunits in rat brainstem auditory pathways: cochlear nuclei, superior olivary complex and nucleus of the lateral lemniscus. *Neuroscience* 2001; 102: 625-38.
 80. De Cabo C, Campos ML, Juiz JM. Comparación de los perfiles de desarrollo en las subunidades del receptor de GABA_A en dos núcleos de la vía auditiva de la vía. *Rev Neurol* 1999; 30 (Separata): 247.
 81. De Cabo C, Luján R, Campos ML, López G, Juiz JM. Differential postnatal development of GABA_A receptor subunits in the medial geniculate body of the rat. *Abstr Soc Neurosci* 1999; 22: 1790.
 82. De Cabo C, Campos ML, Juiz JM. Postnatal developmental profiles of GABA_A receptor subunits in the superior olivary complex of the rat. *Eur J Neurosci* 2000; 12 (Suppl 11): 44.
 83. Isokawa M. Decrement of GABA_A receptor-mediated inhibitory post-

- synaptic currents in dentate granule cells in epileptic hippocampus. *J Neurophysiol* 1996; 75: 1901-8.
84. Shumate MD, Lin DD, Gibbs JW III, Holloway KL, Coulter DA. GABA_A receptor function in epileptic human dentate granule cells: comparison to epileptic and control rat. *Epilepsy Res* 1998; 32: 114-28.
 85. Fritschy JM, Kiener T, Bouillieret V, Loup F. GABAergic neurons and GABA_A receptors in temporal lobe epilepsy. *Neurochem Int* 1999; 34: 435-45.
 86. Loup F, Wieser HG, Yonekawa Y, Aguzzi A, Fritschy JM. Selective alterations in GABA_A receptor subtypes in human temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 2000; 20: 5401-19.
 87. Pirker S, Schwarzer C, Czech T, Baumgartner C, Pockberger H, Maier H, et al. Increased expression of GABA_A receptor beta-subunits in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62: 820-34.
 88. Coulter DA. Chronic epileptogenic cellular alterations in the limbic system after status epilepticus. *Epilepsia* 1999; 40 (Suppl 1): S23-S33.
 89. Koepf MJ, Richardson MP, Brooks DJ, Poline JB, Van Paesschen W, Friston KJ, et al. Cerebral benzodiazepine receptors in hippocampal sclerosis. An objective *in vivo* analysis. *Brain* 1996; 119: 1677-87.
 90. Bouillieret V, Loup F, Kiener T, Marescaux C, Fritschy JM. Early loss of interneurons and delayed subunit-specific changes in GABA_A receptor expression in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* 2000; 10: 305-24.
 91. Buhl EH, Otis TS, Mody I. Zinc-induced collapse of augmented inhibition by GABA in a temporal lobe epilepsy model. *Science* 1996; 271: 369-73.
 92. McIntyre DC, Hutcheon B, Schwabe K, Poulter MO. Divergent GABA_A receptor-mediated synaptic transmission in genetically seizure-prone and seizure-resistant rats. *J Neurosci* 2002; 22: 9922-31.
 93. Semyanov A, Walker MC, Kullmann DM, Silver RA. Tonicity active GABA_A receptors: modulating gain and maintaining the tone. *Trends Neurosci* 2004; 27: 262-9.
 94. Staley KJ, Soldo BL, Proctor WR. Ionic mechanisms of neuronal excitation by inhibitory GABA_A receptors. *Science* 1995; 269: 977-81.
 95. Hammond C. Cellular and molecular neurobiology. San Diego: Academic Press; 2001.
 96. Ben Ari Y. Excitatory actions of GABA during development: the nature of the nurture. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 728-39.
 97. Bowery NG. GABA_B receptor pharmacology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 33: 109-47.
 98. Furtinger S, Pirker S, Czech T, Baumgartner C. Increased expression of gamma-aminobutyric acid type B receptors in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy. *Neurosci Lett* 2003; 352: 141-5.
 99. Furtinger S, Bettler B, Sperk G. Altered expression of GABA_B receptors in the hippocampus after kainic-acid-induced seizures in rats. *Brain Res Mol Brain Res* 2003; 113: 107-15.
 100. Prosser HM, Gill CH, Hirst WD, Grau E, Robbins M, Calver A, et al. Epileptogenesis and enhanced prepulse inhibition in GABA_B1 deficient mice. *Mol Cell Neurosci* 2001; 17: 1059-70.
 101. Gassmann M, Shaban H, Vigot R, Sansig G, Haller C, Barbieri S, et al. Redistribution of GABA_B1 protein and atypical GABA_B responses in GABA_B2-deficient mice. *J Neurosci* 2004; 24: 6086-97.
 102. Thuault SJ, Brown JT, Calver AR, Collingridge GL, Randall A, Davies CH. Mechanisms contributing to the exacerbated epileptiform activity in hippocampal slices expressing a C-terminal truncated GABA_A2 receptor subunit. *Epilepsy Res* 2005; 65: 41-51.
 103. Swann JW, Smith KL, Brady RJ. Localized excitatory synaptic interactions mediate the sustained depolarization of electrographic seizures in developing hippocampus. *J Neurosci* 1993; 13: 4680-9.
 104. Holmes GL, Khazipov R, Ben-Ari Y. New concepts in neonatal seizures. *Neuroreport* 2002; 13: A3-8.
 105. Lerche H, Weber YG, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F. Ion channel defects in idiopathic epilepsies. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 2737-52.
 106. Behar TN, Schaffner AE, Scott CA, O'Connell C, Barker JL. Differential response of cortical plate and ventricular zone cells to GABA as a migration stimulus. *J Neurosci* 1998; 18: 6378-87.
 107. Kandler K. Activity-dependent organization of inhibitory circuits: lessons from the auditory system. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14: 96-104.
 108. Poulter MO, Ohannesian L, Larmet Y, Feltz P. Evidence that GABA_A receptor subunit mRNA expression during development by GABA_A receptor stimulation. *J Neurochem* 1997; 68: 631-9.
 109. De Cabo C, Campos ML, Juiz JM. Desarrollo posnatal de las subunidades del receptor de glicina: diferencias entre dos núcleos de la misma modalidad sensorial. *Rev Neurol* 2001; 33: 876.
 110. Tosetti P, Bakels R, Colin-Le Brun I, Ferrand N, Gaiarsa JL, Caillard O. Acute desensitization of presynaptic GABA_B mediated inhibition and induction of epileptiform discharges in the neonatal rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 3227-34.
 111. Cohen I, Navarro V, Clemenceau S, Baulac M, Miles R. On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy *in vitro*. *Science* 2002; 298: 1418-21.
 112. Hablitz JJ, DeFazio RA. Altered receptor subunit expression in rat neocortical malformations. *Epilepsia* 2000; 41 (Suppl 6): S82-5.
 113. Poulter MO, Brown LA, Tynan S, Willick G, William R, McIntyre DC. Differential expression of alpha1, alpha2, alpha3, and alpha5 GABA_A receptor subunits in seizure-prone and seizure-resistant rat models of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 1999; 19: 4654-61.
 114. Williams JR, Sharp JW, Kumari VG, Wilson M, Payne JA. The neuron-specific K-Cl cotransporter, KCC2. Antibody development and initial characterization of the protein. *J Biol Chem* 1999; 274: 12656-64.
 115. Stein V, Hermans-Borgmeyer I, Jentsch TJ, Hubner CA. Expression of the KCl cotransporter KCC2 parallels neuronal maturation and the emergence of low intracellular chloride. *J Comp Neurol* 2004; 468: 57-64.
 116. Woo NS, Lu J, England R, McClellan R, Dufour S, Mouny DB, et al. Hyperexcitability and epilepsy associated with disruption of the mouse neuronal-specific K-Cl cotransporter gene. *Hippocampus* 2002; 12: 258-68.
 117. Tornberg J, Voikar V, Savilahti H, Rauvala H, Airaksinen MS. Behavioural phenotypes of hypomorphic KCC2-deficient mice. *Eur J Neurosci* 2005; 21: 1327-37.
 118. Boettger T, Rust MB, Maier H, Seidenbecher T, Schweizer M, Keating DJ, et al. Loss of K-Cl co-transporter KCC3 causes deafness, neurodegeneration and reduced seizure threshold. *EMBO J* 2003; 22: 5422-34.
 119. De Cabo C, Prieto-Martín AI, Vale C, Juiz JM, Viñuela A, Muñoz L, et al. Downregulated expression of the potassium-chloride cotransporter KCC2 in a novel animal model of genetic epilepsy. *Abstr Soc Neurosci*; 2004.
 120. Rivera C, Voipio J, Thomas-Crusells J, Li H, Emri Z, Sipila S, et al. Mechanism of activity-dependent downregulation of the neuron-specific K-Cl cotransporter KCC2. *J Neurosci* 2004; 24: 4683-91.
 121. Rivera C, Li H, Thomas-Crusells J, Lahtinen H, Viitanen T, Nanobashvili A, et al. BDNF induced TrkB activation downregulates the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 and impairs neuronal Cl⁻ extrusion. *J Cell Biol* 2002; 159: 747-52.
 122. Reid KH, Li GY, Payne RS, Schurr A, Cooper NG. The mRNA level of the potassium-chloride cotransporter KCC2 covaries with seizure susceptibility in inferior colliculus of the post-ischemic audiogenic seizure-prone rat. *Neurosci Lett* 2001; 308: 29-32.
 123. Reid KH, Guo SZ, Iyer VG. Agents which block potassium-chloride cotransport prevent sound-triggered seizures in post-ischemic audiogenic seizure-prone rats. *Brain Res* 2000; 864: 134-7.
 124. Hesdorffer DC, Stables JP, Hauser WA, Annegers JF, Cascino G. Are certain diuretics also anticonvulsants? *Ann Neurol* 2001; 50: 458-62.
 125. Kanner AM. Diuretics as antiepileptic drugs. *Epilepsy Curr* 2002; 2: 39-40.
 126. Haglund MM, Hochman DW. Furosemide and mannitol suppression of epileptic activity in the human brain. *J Neurophysiol* 2005; 94: 907-18.
 127. Resor SR, Resor LD, Woodbury DM, Kemp JW. Acetazolamide. In Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, eds. *Antiepileptic drugs*. 4 ed. New York: Raven Press; 2002. p. 969-85.
 128. Katayama F, Miura H, Takahashi S. Long-term effectiveness and side effects of acetazolamide as an adjunct to other anticonvulsants in the treatment of refractory epilepsies. *Brain Dev* 2002; 24: 150-4.
 129. Varadkar S, Duncan JS, Cross JH. Acetazolamide and autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44: 986-7.
 130. Boettger T, Hubner CA, Maier H, Rust MB, Beck FX, Jentsch TJ. Deafness and renal tubular acidosis in mice lacking the K-Cl co-transporter Kcc4. *Nature* 2002; 416: 874-8.
 131. Leniger T, Wiemann M, Bingmann D, Widman G, Hufnagel A, Bonnet U. Carbonic anhydrase inhibitor sulthiame reduces intracellular pH and epileptiform activity of hippocampal CA3 neurons. *Epilepsia* 2002; 43: 469-74.
 132. Pérez-Velázquez JL. Bicarbonate-dependent depolarizing potentials in pyramidal cells and interneurons during epileptiform activity. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 1337-42.
 133. Ali A, Ahmad FJ, Pillai KK, Vohora D. Evidence of the antiepileptic potential of amiloride with neuropharmacological benefits in rodent models of epilepsy and behavior. *Epilepsy Behav* 2004; 5: 322-8.
 134. Armijo JA, Valdizan EM, De Las Cuevas I, Cuadrado A. Avances en la fisiopatología de la epileptogénesis: aspectos moleculares. *Rev Neurol* 2002; 34: 409-29.
 135. Gutiérrez-Delgado E, Serratos JM. Genetics of the epilepsies. *Curr Opin Neurol* 2004; 17: 147-53.
 136. Blandfort M, Tsuboi T, Vogel F. Genetic counseling in the epilepsies. I. Genetic risks. *Hum Genet* 1987; 76: 303-31.
 137. Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurol* 1998; 43: 435-45.

NEUROQUÍMICA DE LA EPILEPSIA, NEUROTRANSMISIÓN INHIBITORIA Y MODELOS EXPERIMENTALES: NUEVAS PERSPECTIVAS

Resumen. Objetivo. Los mecanismos biológicos de la epilepsia permiten establecer patrones fisiopatológicos clave para la selección de nuevas dianas terapéuticas. La identificación de estos mecanismos aporta además conocimiento sobre la dinámica de ordenación neuronal, la sinaptogénesis, la transmisión sináptica y los receptores implicados e incluso el desarrollo cerebral. Desarrollo. Los recientes avances neurobiológicos sobre el sistema gabaérgico identifican a éste como un agente principal implicado en la fisiopatología de la epilepsia. Evaluamos los distintos formatos funcionales de los receptores γ -aminobutíricos ionotrópicos ($GABA_A$) y metabotrópicos ($GABA_B$): aunque se postula una función inhibitoria principalmente, con la variabilidad en su localización, las subunidades y la maduración/fisiología neuronal pueden acabar expresando funciones incluso excitadoras. Se discuten las anomalías en el sistema gabaérgico identificadas en modelos animales con epilepsia y muestras cerebrales de pacientes sometidos a cirugía a causa de la epilepsia. El mecanismo inhibitorio de la activación de receptores GABA se lleva a cabo por la hiperpolarización obtenida mediante la entrada de Cl^- a la neurona, mediada por el cotransportador KCC2, de expresión típicamente neuronal. Mutaciones en el gen de KCC2 producen ratones susceptibles a crisis. En algunos modelos animales se ha comprobado una supresión de las convulsiones con diuréticos de asa (furosemida). La identificación en múltiples síndromes epilépticos de mutaciones en genes que codifican canales iónicos sitúan a la epilepsia dentro del cada vez más amplio grupo de trastornos conocidos como canalopatías. El origen podría ser poligenético en numerosos casos. Conclusión. El sistema gabaérgico parece postularse como el principal sistema implicado en la fisiopatología de la epilepsia, aunque los cuadros hasta ahora considerados idiopáticos podrían tener un carácter poligénico. [REV NEUROL 2006; 42: 159-68]

Palabras clave. Canalopatías. Diuréticos de asa. Epilepsia. GABA. KCC2. Modelos animales. Neurogenética. Receptores.

NEUROQUÍMICA DA EPILEPSIA, NEUROTRANSMISSÃO INIBIDÓRA E MODELOS EXPERIMENTAIS: NOVAS PERSPECTIVAS

Resumo. Objectivo. Os mecanismos biológicos da epilepsia permitem estabelecer padrões fisiopatológicos chave para a selecção de novos alvos terapêuticos. A identificação destes mecanismos traz mais conhecimento sobre a dinâmica de ordenação neuronal, a sinaptogénesis, a transmissão sináptica e os receptores envolvidos e inclusive o desenvolvimento cerebral. Desenvolvimento. Os recentes avanços neurobiológicos sobre o sistema gabaérgico identificam-no como um interveniente principal na fisiopatologia da epilepsia. Avaliamos os diferentes formatos funcionais dos receptores γ -amino butíricos ionotrópicos ($GABA_A$) e metabotrópicos ($GABA_B$): ainda que se postule uma função inibidora principal, com a variabilidade na sua localização, subunidades e maturação/fisiologia neuronal podem acabar por expressar funções inclusive excitadoras. Discutem-se as anomalias no sistema gabaérgico identificadas nos modelos animais com epilepsia e amostras cerebrais de doentes submetidos a cirurgia devido à epilepsia. O mecanismo inibidor da activação de receptores GABA é executado pela hiperpolarização obtida mediante a entrada de Cl^- no neurónio, mediado pelo cotransportador KCC2, de expressão tipicamente neuronal. Mutações no gene de KCC2 produzem ratos susceptíveis a crises. Em alguns modelos animais comprovou-se uma supressão das convulsões com diuréticos de ansa (furosemida). A identificação, em múltiplas síndromas epilépticas, de mutações em genes que codificam canais iónicos, situam a epilepsia dentro do cada vez mais amplo grupo de perturbações conhecidas como canalopatias. A origem poderá ser poligenética em numerosos casos. Conclusão. O sistema gabaérgico parece postular-se como o principal sistema interveniente na fisiopatologia da epilepsia, ainda que os quadros considerados idiopáticos até agora pudessem ter um carácter poligénico. [REV NEUROL 2006; 42: 159-68]

Palavras chave. Canalopatias. Diuréticos de ansa. Epilepsia. GABA. KCC2. Modelos animais. Neurogenética. Receptores.