

Modelos experimentales de epilepsia para la identificación de la fisiopatología y evaluación de nuevos anticonvulsivantes

Experimental models of epilepsy to identify the physiopathology and evaluate new anticonvulsant

Consuelo Ventura-Mejía¹* y Fridha Viridiana Villalpando-Vargas¹

¹Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) Camino Ramón Padilla Sánchez No. 2100 Nextipac, Zapopan, Jalisco C.P.45200.

* Autor para correspondencia: chelo_bio@yahoo.com.mx

Resumen

La epilepsia es una alteración neurológica que tiene una prevalencia del 2 al 5% y aproximadamente 67 millones de personas en el mundo la padecen. Una de las epilepsias más fármaco-resistentes es la epilepsia del lóbulo temporal (ELT). Durante algunos años se ha dado el incremento al entendimiento en avances acerca de las crisis de epilepsia y de mecanismos epileptogénicos, que esto no se hubiera imaginado hace 30 años. Este progreso viene con una larga lista de estudios de sistemas de modelos animales que intentan reconstruir muchos de los detalles específicos que controlan tanto la inhibición como la excitación que dan lugar a las crisis en diversas regiones del cerebro ya sea cortical o subcortical.

El uso de modelos animales juega un papel muy importante para la investigación biomédica moderna. El desarrollo de estos diversos modelos pueden reproducir características especiales para síndromes clínicos, fenotípicos y diversos daños cerebrales, que durante mucho tiempo han sido un aspecto importante de la investigación en la epilepsia. En este trabajo trataremos algunos de los modelos agudos y crónicos utilizados para generar crisis epilépticas mediante la aplicación de fármacos como son: 4-aminopiridina (4-AP), pilocarpina (PILO) y ácido kaínico (AK) por diversas vías de administración, son algunos de los modelos más utilizados en el laboratorio.

Palabras clave: modelo, 4-aminopiridina, pilocarpina, ácido kaínico, epilepsia.

Abstract

Epilepsy is a neurological alteration which has a prevalence from 2 to 5% and approximately 67 million people in the world suffer it. One of the most drug resistant epilepsy is the temporal lobe epilepsy (ELT). During some years has occurred the increase in the comprehension in advances about the crisis, of the epilepsy and epileptogenic mechanism, this would not have been imagined 30 years ago. This progress comes from a long list of studies of the system of animal models that try to rebuild many of the specific details that control both the inhibition as the excitation that give place to the seizures in different regions of the brain either cortical or subcortical.

The use of animal models plays a very important role for the modern biomedical investigation, the development of these different models may reproduce especial characteristics for clinic syndromes, phenotypes and different brain damages, that for a long time have been an important aspect of the investigation in the epilepsy in this work we will try some of the acute and chronic models use to generate seizures through the application of drugs such as: 4-aminopyridine (4-AP), pilocarpine (PILO) and kainic acid (AK) though different administration ways, these are some of the most used models in the laboratory.

Keywords: model, 4-aminopyridine, pilocarpine, kainic acid, epilepsy

Introducción

La epilepsia es un síndrome de disfunción cerebral de carácter recurrente que se caracteriza por la descarga sostenida y anormalmente sincrónica de un grupo de neuronas cerebrales. Típicamente la epilepsia se origina en redes neuronales que bajo condiciones normales generan oscilaciones sincrónicas locales, así como a distancia. La hipersincronización neuronal patológica se considera de importancia para la generación de los eventos epileptiformes electroencefalográficos que se presentan, tanto en modelos de epilepsia agudos, como crónicos (Buzsaki et al 1992; Ylinen et al 1995; Grenier et al 2001; Bragin et al 2002a). Asimismo, se considera que la actividad epiléptica es el resultado de un desequilibrio entre la actividad excitadora e inhibidora, la primera debido a un incremento del neurotransmisor glutamato (GLU) y la segunda por una disminución en los niveles de ácido γ -aminobutírico (GABA), (Rowley et al 1995; Tapia et al 1999; Medina-Ceja et al 2000).

Esta alteración neurológica tiene una prevalencia (exceptuando las crisis febriles) del 2 al 5% y aproximadamente 67 millones de personas en el mundo la padecen (Angus y Parsons 2008). En México, un estudio epidemiológico sobre en-

fermedades neurológicas reportó una prevalencia de epilepsia en 3.9 de 1000 habitantes (Yemadje et al 2011).

En esta alteración neurológica como lo es la epilepsia se conocen varios modelos animales implementados, a este respecto se tiene una larga lista de estudios realizados en los sistemas de modelos animales que intentan reproducir las características necesaria para cada tipo de síndrome clínico o de algún traumatismo ocasionado por alguna lesión o accidente, se pueden generar en cualquier parte del cerebro. El uso de modelos animales juega un papel muy importante para la investigación biomédica moderna. El desarrollo de esto diversos modelos pueden reproducir características especiales para síndromes clínicos, fenotípicos y diversos daños cerebrales, que durante mucho tiempo han sido un aspecto importante de la investigación en la epilepsia (Pitkänen A. et al 2006). En este trabajo realizaremos la recopilación de información de 4 modelos de inducción tanto agudos como crónicos por administración de fármacos como son: 4-AP, PILO y AK, así como sus diversas vías de administración, puesto que son de los más utilizados en el laboratorio, entre otros.

Modelo de 4-AP

Los modelos agudos generalmente utilizan la aplicación de drogas a nivel intracerebral (i.c.) como el caso de la bicuculina o la 4-AP y se les considera como modelos convulsivos más que de epilepsia (Medina-Ceja et al 2000; Medina Ceja y Ventura Mejía 2010).

La 4-AP es una droga que cuando se administra por vía intraperitoneal (i.p.) o i.c. es capaz de inducir crisis convulsivas en diferentes especies de animales (Spyker et al 1980; Pasantes-Morales y Arzate 1981; Tapia y Sitges 1982; Glover 1982; Pasantes-Morales et al 1987; Mihaly et al 1990). El patrón de crisis convulsivas inducido por la administración i.p. de 4-AP en la rata, es muy similar al que se produce por la administración i.c. de ácido kaínico (Ben-Ari 1985). Este tipo de crisis se caracterizan por la aparición de un período convulsivo largo, con una etapa inicial de hiperexcitación, seguido de convulsiones clónicas, tónico-clónicas y muerte durante una convulsión tónica en algunos casos, mientras que los animales que sobreviven presentan movimientos clónicos alternados frecuentemente con contracciones tónicas de mediana intensidad (Fragoso-Veloz et al 1990). De manera similar, la 4-AP ejerce un efecto convulsivante cuando se administra i.c., ya sea en el hipocampo (Fragoso-Veloz et al 1990; Medina-Ceja et al 2000) o en el ventrículo cerebral lateral de la rata (Gandolfo et al 1989).

Los estudios *in vitro* han permitido observar que el efecto de la 4-AP sobre la liberación de neurotransmisores es de espectro amplio, es decir, independientemente de la sustancia mediadora, tipo de sinapsis o especie (Thesleff 1980). Mediante estudios electrofisiológicos se ha demostrado que la 4-AP bloquea la corriente transitoria de K^+ (IA) y de inactivación lenta (ID), lo cual conduce a una prolongación del potencial de acción a través de un retardo en la fase de repolarización del potencial de acción, fenómeno que mantiene abiertos los canales de Ca^{++} sensibles al voltaje (Rogawski y Barker 1983), lo que podría explicar la inducción del aumento en la liberación de neurotransmisores. Sin embargo,

otras evidencias demuestran que la 4-AP aumenta también la corriente de Ca^{++} (Agoston y col. 1983; Gibson y Manger 1988). Hasta el momento con estudios realizados no está demostrado completamente cual es el mecanismo principal de inducción de la 4-AP para la generación de las crisis (Codadu N. K. et al 2019).

Modelo de PILO

Dos de los modelos que más se aproximan a la epilepsia del lóbulo temporal (ELT) en humanos, es el de la administración i.c. de AK o la administración de PILO en ratas (Bragin et al 1999a; Bragin et al 2004; De Fu He et al 2010). La PILO es un alcaloide natural que proviene de la planta brasileña *Pilocarpus jaborandi*, es el primer fármaco utilizado como colirio en humanos para disminuir la presión intraocular, se clasifica como un fármaco colinérgico y tiene una vida media de eliminación de 0,76 horas después de dos días de administrar 5mg por vía oral tres veces diarias. No se ha explicado adecuadamente como se elimina la PILO en humanos, aunque se sabe, que alrededor del 14% se elimina en la orina como ácido pilocárpico 12 horas después de la administración. En el modelo de PILO se presentan 3 periodos: 1) El periodo agudo donde se induce el Status Epilepticus (SE), con duración de 6 a 12 horas. 2) Un periodo silente donde aparentemente no se observa actividad epileptiforme y convulsiva. 3) El periodo crónico donde se presentan crisis espontáneas recurrentes de 2 a 4 meses posteriores a la aplicación de PILO (Pitkänen et al 2006), sin embargo en trabajos realizados en el laboratorio se ha encontrado que pueden generar crisis hasta un año después de su administración así como a 15 días de administración (Medina-Ceja et al 2014), Debido a las características particulares de este modelo, como son la propagación de las fibras musgosas, pérdida de interneuronas, formación de circuitos nuevos y activación glial que darán paso a la presencia de crisis espontáneas recurrentes frecuentes en el período crónico, se han generado contribuciones de importancia y su uso es ampliamente aceptado (Pitkänen et al 2006).

Está demostrado que la PILO actúa en los receptores muscarínicos M1 y M2 de la vía colinérgica, y que la activación de receptores M2 produce la inhibición de la adenilato cicla-sa favoreciendo con ello una disminución en la liberación de acetilcolina y en la excitación neuronal (Smolders et al 1997), mientras que por otro lado se presenta un incremento en la liberación de GABA con lo que se disminuye aún más la excitación neuronal (Cavalheiro et al 1994). La activación del receptor M1 produce la activación de la fosfolipasa C produciendo diacil-glicerol y trifosfato de inositol, lo que resulta en una alteración de las corrientes de Ca²⁺ y K⁺ así como un incremento en la excitabilidad cerebral (Segal, 1988). Las altas concentraciones de Ca²⁺ promueven la liberación de GLU, induciendo el status epilepticus (SE) (Klan et al 1999; Smolders et al 1997). El GLU activa los receptores iono-trópicos AMPA/KA, permitiendo la entrada de Na⁺ y Ca²⁺ y como consecuencia, el Mg²⁺ que bloquea los receptores de NMDA es removido, induciendo la activación de este receptor y permitiendo la entrada de más Ca²⁺ a la célula postsináptica lo que produce excitotoxicidad y muerte celular. Por otra parte, la activación de los receptores de NMDA por GLU promueve el incremento en la expresión de la proteína GAP-43, que se encuentra asociada a la propagación de las fibras musgosas y la generación de plasticidad del hipocampo.

En el modelo de inducción de crisis espontáneas por administración Intracerebroventricular (i.c.v.) de PILO (Croiset y De Wied 1992) no es necesario ningún pretratamiento, ya que la concentración utilizada es de 2.4mg/kg de peso, la aplicación es directa en ventrículo lateral derecho y la generación de las crisis es muy rápida (alrededor de los 5 min.). Es importante monitorear cuidadosamente la inducción del SE y la duración de este período, ya que si se utiliza un tratamiento anti-SE como es la aplicación del Diazepam (DZP) (5-10 mg/Kg) durante los primeros 90 minutos después del inicio del SE, se tiene como resultado un alto grado de eficacia para el desarrollo posterior de las crisis espontáneas y una disminución en la mortalidad de los animales (Mello et al 1993).

Modelo de AK.

El AK es un análogo del GLU, induce crisis límbicas y daño neuronal subsecuente, principalmente en las regiones CA1 y CA3 del hipocampo, amígdala, corteza peririnal y entorrinal; además de producir gliosis (Miller et al 1990; Sampieri et al 2014).

El AK es un derivado de ácido glutámico extraído de algas rojas, es un fuerte estimulante del sistema nervioso central, convulsivante, epileptogénico que actúa a través de los receptores de kainato abundantes en el hipocampo (Jahr et al 1987), pero se mantiene una afinidad hacia el resto de los receptores de GLU, ocasionado por la apertura de sus canales por largo tiempo, induciendo así la entrada de sodio y agua en grandes cantidades, llevando a la despolarización de la membrana, provocando por último la muerte de la neurona por neurotoxicidad y sobrecarga osmótica (Medina Marín et al 2002).

El AK lo podemos administrar por diferentes vías: i.p., subcutánea (s.c.), i.c.v. o intra-hipocampal (i.h.). Las dosis dependen de la edad del animal, usualmente las dosis para generar convulsiones y SE en ratas adultas son de 10 a 14 mg/Kg, en ratas jóvenes es de 1 a 4mg/kg vía i.p. (Velisek 2006).

Los tratamientos de AK pueden ser multidosis bajas o una sola dosis alta: Múltiples dosis bajas o Kindling (i.e. 2.5-5 mg/kg i.p. o s.c.) en este caso las multidosis ayudan a asegurar la sobrevivencia de los animales (Dudek et al. 2006). Una sola dosis alta (i.e. 8-15 mg/kg, i.p. o s.c.), solo que en este tipo de administración se tiene una alta mortalidad, se puede detener el SE con benzo-diacepinas después de un tiempo determinado (30 minutos), pero algunos animales pueden morir antes de la inyección de benzodiazepinas, otra complicación es que algunos animales no presentan SE (Tremblay et al 1984b; Pirttila et al 2001).

Al administrar AK por vía sistémica se produce hipo-actividad que oscila entre 20-30 minutos (Ben-Ari et al. 1981); en la tercera semana de edad empiezan a emerger "sacudidas de perro mojado", se reporta un incremento proporcional

asociado a la edad (Velisek, 2006). Las convulsiones clónicas pueden ser inducidas a partir de la segunda semana posnatal, pero regularmente aparecen a partir de la tercera y cuarta; la salivación profusa ocurre con frecuencia. Las convulsiones tónico-clónicas disminuyen de acuerdo a la senectud. Usualmente, las convulsiones ocurren dentro de los primeros 60 minutos después de la administración de AK (Velisek 2006).

En el modelo de AK, los animales inyectados unilateralmente en el hipocampo con esta droga, presentan crisis espontáneas y recurrentes de 2 a 6 meses posteriores a su administración. En este modelo crónico de epilepsia, se han observado tres tipos de actividad epileptiforme interictal: a) Espigas interictales; b) Oscilaciones de alta frecuencia, llamadas en inglés "Fast Ripples" de 250 a 500 Hz, solas o que se superponen a las espigas interictales; c) las oscilaciones gama de 30 a 80 Hz que se superponen a ondas lentas de una duración de 200 a 600 milisegundos (Bragin et al 1999a, 2000 y 2002a).

Conclusiones

El estudio de los diferentes modelos de crisis epilépticas, a través de los años ha desarrollado una gran cantidad de posibilidades en el análisis y comprobación de diversos fármacos anticonvulsivos que se utilizan en padecimientos y daños cerebrales. Podemos encontrar modelos crónicos como agudos que dependiendo de tu tipo de estudio, el mejor modelo que podemos aplicar es el aquel que genera el daño en el área de interés para nosotros, encontramos modelos para epilepsia del lóbulo temporal como el de PILO o AK a este respecto ambos modelos tienen una administración ya sea i.p. o i.c. para la propagación de las crisis, ambos modelos producen crisis convulsivas espontáneas generalizadas una vez que se genera el daño, el problema con estos modelos es que en ambas vías de administración tiene una gran mortalidad por esta razón se utiliza un gran número de animales y con mucho cuidados antes y después de la generación del daño lo que conlleva a un alto grado de complejidad llegar a tener el modelo de PILO o AK como modelos crónicos

cos, como un modelo agudo tenemos 4-AP que lo podemos utilizar para cualquier región cerebral ya que afecta a los canales de potasio y es generalizado, en este modelo de 4-AP no se tiene totalmente esclarecido su mecanismo de acción, encontramos que actúa sobre los canales de potasio dependientes de voltaje únicamente, pero falta un importante camino que discernir a este respecto, sin embargo es muy utilizado por su amplia acción en sus dos vías de administración ya sea i.c. o i.p. Con esta revisión podemos decir que nos queda un amplio camino por investigar en el tema de los modelos ya que hasta el momento pueden llegar a ser de importante ayuda para el diagnóstico e investigación de nuevos anticonvulsivos.

Literatura citada

- Agoston D., Hargittai P. Nagy A. 1983. *Effects of 4-aminopyridine on calcium movements and changes of membrane potential in pinched-off nerve terminals from rat cerebral cortex. Journal of Neurochemistry* 41: 745-751.
- Angus L. H., Parsons L. M. 2008. *Epilepsy: epidemiology, classification and natural history. Medicine.* 36:11, 571-578.
- Ben-Ari, Y, Tremblay, E, Riche, D, Ghilini, G, & Naquet, R. 1981. *Electrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculline or pentetrazole: metabolic mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. Neuroscience*, 6(7), 1361-1391.
- Ben-Ari Y. 1985. *Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. Neuroscience* 14: 375-403.
- Bragin A., Engel J. Jr., Wilson C.L., Vezzini E., Mathern G.W. 1999a. *Electrophysiologic analysis of chronic seizure model after unilateral hippocampal KA injection. Epilepsia.* 40:1210-1221.
- Bragin A., Mody I., Wilson C.L., Engel J. Jr. 2002a. *Local generation of fast ripples in epileptic brain. The Journal of Neuroscience.* 22: 2012-2021.
- Bragin A., Wilson C. L., Almajano J., Mody I., Engel J. Jr. 2004. *High-frequency Oscillations after Status Epilepticus: Epileptogenesis and Seizure Genesis. Epilepsia*, 45(9):1017-1023.
- Buzsáki G., Horváth Z., Urioste R., Hetke J., Wise K. 1992. *High-frequency network oscillation in the hippocampus. Science.* 256: 1025-1027.
- Cavalheiro E. A., Fernandes M. J. S., Turski L., Naffah-Mazzacoratti M. G. 1994. *Spontaneous recurrent seizure*

- res in rats: amino acids and monoamines determination in the hippocampus. *Epilepsia*, 35: 1-11.
- Codadu N. K., Parrish R. Ryley and Trevelyan Andrew J. 2019. Region-specific differences and areal interactions underlying transitions in epileptiform activity. *The Journal of Physiology*. 00.0 pp 1–18. doi: <https://doi.org/10.1101/435156>.
- Croiset G. y De Wied D. 1992. ACTH: a structure-activity study on pilocarpine-induced epilepsy. *European Journal of pharmacology*. 229: 211-216.
- De Fu He, Dong L. M., Yong C. T., Jerome E. Jr., Anatol B., Feng R. T. 2010. Morpho-Physiologic Characteristics of Dorsal Subicular Network in Mice after Pilocarpine-Induced Status Epilepticus. *Brain Pathology* 20: 80–95.
- Dudek, Francis Edward, Clark, Suzanne, Williams, Philip A., & Grabenstatter, Heidi L. 2006. Models of seizures and epilepsy. Paper presented at the Elsevier. pp 433-448.
- Fragoso-Veloz J., Massieu L., Alvarado R., Tapia R. 1990. Seizures and wet dog shakes induced by 4-aminopyridine and their potentiation by nifedipine. *European Journal of Pharmacology* 178: 275-284.
- Gandolfo G., Gottesmann C., Bidard J. N., Lazdunski M. 1989. Ca⁺⁺ channel blockers prevent seizures induced by class of K⁺ channel inhibitors. *European Journal of Pharmacology* 160: 173-177.
- Gibson G. E., Manger T. 1988. Changes in cytosolic free calcium with 1,2,3,4, -tetrahydro-5-aminoacridine, 4-aminopyridine and 3,4, -diaminopyridine. *Biochemistry and Pharmacology*, 37: 4191-4196.
- Glover W. E. 1982. The aminopyridines. *Genetics Pharmacology* 13: 259-474.
- Grenier F., Timofeev I., Steriade M. 2001. Focal synchronization of ripples (80-200 Hz) in neocortex and their neuronal correlates. *Journal of Neurophysiology*, 86: 1884-1898.
- Jahr, C Eo, & Stevens, CF. 1987. Glutamate activates multiple single channel conductances in hippocampal neurons. *Nature*, 325(6104), 522-525.
- Klan G. M., Smolders I., Lindekens H., Manil J., Ebinger G., Michotte Y. 1999. Effects of diazepam on extracellular brain neurotransmitter in pilocarpine-induced seizures in rats. *Journal of pharmacology*, 373: 153-161.
- Medina-Ceja L., Morales-Villagrán A., Tapia R. 2000. Action 4-aminopyridine on extracellular amino acids in hippocampus and entorhinal cortex: a dual microdialysis and electroencephalographic study in awake rats. *Brain Research Bulletin*, 53:255-262.
- Medina-Ceja L., Pardo-Peña K., Ventura-Mejía. 2014. Evaluation of behavioral parameters and mortality in a model of temporal lobe epilepsy induced by intracerebroventricular pilocarpine administration Cellular, molecular and developmental neuroscience, *NeuroReport*, 25:875–879.
- Medina-Ceja L., Ventura-Mejía C. 2010. Differential effect of trimethylamine and quinine on seizures induced by 4-aminopyridine administration in the entorhinal cortex of vigilant rats. *Seizure*, 19: 507-513.
- Medina Marín Adriana, & Escobar Martha. 2002. Sistema glutamatergico, primera parte: Sinaptología, homeostasis y muerte celular. *Revista colombiana de Psiquiatria*, 31(3), 193-218.
- Mello L. E., Cavalheiro E. A., Tan A. M., Kupfer W. R., Pretorius J. K., Babb T. L., Finch D. M. 1993. Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. *Epilepsia*, 34: 985-995.
- Mihaly A., Bencsik K., Solymon T. 1990. Naltrexone potentiates 4-aminopyridine seizures in rat. *Journal of Neural Transmission* 79: 59-67.
- Miller, L. P., Johnson, A. E., Gelhard, R. E., & Insel, T. R. 1990. The ontogeny of excitatory amino acid receptors in the rat forebrain--II. Kainic acid receptors. *Neuroscience*, 35(1), 45-51.
- Pasantes-Morales H. y Arzate M. E. 1981. Effect of taurine on seizures induced by 4-aminopyridine. *Journal of Neuroscience Research* 6: 465-474.
- Pasantes-Morales H., Arzate M. E., Quesada O., Huxtable R. J. 1987. Higher susceptibility of taurine deficient rats to seizures induced by 4-aminopyridine. *Neuropharmacology*, 26: 1721-1725.
- Pirttila, T. R., Pitkanen, A., Tuunanen, J., & Kauppinen, R. A. 2001. Ex vivo MR microimaging of neuronal damage after kainate-induced status epilepticus in rat: correlation with quantitative histology. *Magnetic Resonance in Medicine*, 46(5), 946-954. <https://doi.org/10.1002/mrm.1281>.
- Pitkänen A., Schwartzkroin P. A., Moshé S. L. 2006. The pilocarpine model of seizures. *Models of seizures and epilepsy*. Elsevier. pp 433-448. ISBN 13: 978-0-12-088554-1.
- Rogawski M. A. y Barker J. L. 1983. Effects of 4-aminopyridine on calcium action potentials and calcium current under voltage clamp in spinal neurons. *Brain Research* 280: 180-185.
- Rowley H. C., Marsden C. A., Martin K. F. 1995. Differential effects of phenytoin and sodium valproate on seizure induced change in gamma-aminobutyric acid and glutamate release in vivo. *European Journal of pharmacology*, 294: 541-546.
- Sampieri, Aristides III, Rivera-Espinosa, Liliana, & Zavala-Tecuapetla, Cecilia. 2014. Modelos experimentales de la epilepsia del lóbulo temporal. *Acta Pediátrica de México*, 32(5), 311-312.
- Segal M. 1988. Synaptic activation of a cholinergic receptor in rat hippocampus. *Brain Research*, 452: 79-82.
- Smolders I., Belle K. V., Ebinger G., Michotte Y. 1997. Hippocampal and cerebellar extracellular amino acid during pilocarpine-induced seizures in freely moving rats. *Journal of Pharmacology*, 319: 21-29.
- Spyker D. A., Linch C., Shabanowitz J y Jinn J. 1980. Poi-

- soning with 4-aminopyridine: report of three cases. *Clinical toxicology*, 16: 487-497.
- Tapia R., Medina-Ceja L., Peña F. 1999. On the relationship between extracellular glutamate, hyperexcitation and neurodegeneration, in vivo. *Neurochemistry International*, 34: 23-31.
- Tapia R., Stiges M. 1982. Effect of 4-Aminopyridine on transmitter release in synaptosomes. *Brain Research*, 250: 291-299.
- Thesleff S. 1980. Aminopyridines and synaptic transmission. *Neuroscience* 5: 1413-1419.
- E., Nitecka, L., Berger, M. L., & Ben-Ari, Y. 1984b. Maturation of kainic acid seizure-brain damage syndrome in the rat. I. Clinical, electrographic and metabolic observations. *Neuroscience*, 13(4), 1051-1072.
- Velisek, L. 2006. Models of chemically-induced acute seizures. *Models of seizures and epilepsy*, pp127-152.
- Yemadje, L. P., Houinato, D., Quet, F., Druet-Cabanac, M., & Preux, P. M. 2011. Understanding the differences in prevalence of epilepsy in tropical regions. *Epilepsia*, 52(8), 1376-1381. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03099.x
- Ylinen A., Bragin A., Nadasdy Z., Jando G., Szabo I., Sik A., Buzsáki G. 1995. Sharp wave-associated high frequency oscillation (200Hz) in the intact hippocampus: network and intracellular mechanisms. *Journal of Neuroscience*, 15: 30-46.