

Activación del sistema de los opioides endógenos durante el desarrollo del *kindling* amigdalino de la rata

Luisa L. Rocha Arrieta*

Summary

Some studies have shown that the opioid peptide system is activated by epilepsy. In this study, changes in the release and tissue concentrations of opioid peptides, as well as the mu receptor binding alterations produced during the amygdaloid kindling process, are analyzed together. These observations have potentially important implications for understanding the role of the opioid peptide systems in the epileptogenesis process as well as their influence in the epileptic activity and the development of interictal behaviors.

Resumen

Algunos estudios han indicado que la actividad epiléptica se activa al sistema de opioides endógenos. En el presente estudio se analizan de manera global, los cambios de la liberación de opioides endógenos y de sus niveles tisulares, así como las alteraciones de los niveles de los receptores mu durante el desarrollo del *kindling* amigdalino de ratas. El análisis de estos cambios resulta relevante para entender el papel de los opioides endógenos en el proceso de epileptogénesis y los cambios conductuales observados durante los periodos postictal e interictal.

Epilepsia y opioides endógenos

La epilepsia es un desorden del sistema nervioso que se caracteriza por la sincronización anormal de la actividad neuronal. Esta activación puede ser focal o abarcar estructuras cerebrales lejanas al lugar donde se inició la descarga eléctrica. Normalmente, la actividad nerviosa se mantiene en un estado de equilibrio dinámico regulado por procesos inhibidores y excitadores. El aumento de los mecanismos excitadores o la disminución de los inhibidores puede producir un estado epiléptico.

Al término de una crisis epiléptica (periodo postictal) y durante varias horas a semanas después de la misma (periodo interictal), la probabilidad de producción de una crisis epiléptica subsecuente, disminuye. Este efecto se postula como el resultado de un aumento de mecanismos inhibidores produciendo así una elevación del umbral a la actividad epiléptica (10).

Los opioides endógenos son neuromoduladores con efectos inhibidores (7). Estos neuropéptidos que se localizan a lo largo del sistema nervioso de diferentes especies animales, tienen un papel importante en los mecanismos de la analgesia, la dependencia, el estrés, la ingesta de alimentos, la reproducción y la actividad sensorial entre otras (36). Evidencias experimentales indican que la actividad epiléptica activa al sistema de los opioides endógenos. En pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, se observa un aumento de los niveles de los receptores mu en la región cortical que rodea al foco epiléptico (16) y una disminución del metabolismo neuronal (9). Este último signo es similar al hipometabolismo producido por la administración intracerebral de opioides en ratas (5). Así mismo, en el líquido cerebroespinal de sujetos epilépticos, los niveles de leuencefalina, que es un opioide endógeno, se encuentran elevados (25). Los efectos inhibidores de los opioides endógenos participan en la supresión de la actividad epiléptica (28,34), así como en la producción de algunas de las alteraciones conductuales observadas durante los periodos postictal e interictal, como son amnesia, inmovilidad, euforia, depresión, psicosis, esquizofrenia paranoide, etc. (12).

Kindling amigdalino y opioides endógenos

El uso de diferentes modelos experimentales de epilepsia permite investigar los mecanismos por los que se originan las oscilaciones caóticas que caracterizan a la actividad epiléptica; así mismo, es posible evaluar medidas terapéuticas que restauren la homeostasis del sistema nervioso. El *kindling* eléctrico amigdalino es un modelo experimental de epilepsia del lóbulo temporal. El modelo *kindling*, inicialmente descrito por Goddard y col. en 1969 (17), consiste en la aplicación repetida de estímulos eléctricos o químicos subumbrales. Dicha estimulación induce cambios conductuales y electrográficos progresivos que culminan en la producción de crisis epilépticas generalizadas tónico-clónicas (17,39).

Durante el desarrollo del *kindling* amigdalino de la rata, se diferencian varias fases (39) y se propone que

* División de Neurociencias. Instituto Mexicano de Psiquiatría, Calz. México-Xochimilco 101, Tlalpan 14370, México, D.F.

en cada una de ellas, los opioides endógenos juegan un papel importante. Dichas fases se engloban principalmente en:

- a) Fases tempranas o crisis parciales: La postdescarga que resulta de las primeras estimulaciones eléctricas, se localiza en la amígdala estimulada, y después se propaga a la amígdala contralateral. Al principio, las ratas presentan espasmos musculares en la cara (fase I), seguido de movimientos de cabeza (fase II) y miembros anteriores (fase III). Durante estas fases, la administración de un antagonista de los opioides endógenos como la naloxona, previa a cada estimulación eléctrica, acelera el desarrollo del *kindling* eléctrico amigdalino (13,18). Contrariamente, la activación de los opioides endógenos por choques electroconvulsivos (21, 22) retarda el desarrollo de dicho proceso (37).
- b) Fases tardías o crisis generalizadas: La postdescarga se propaga a todo el sistema nervioso y se asocia a movimientos tónico-clónicos generalizados (fase IV) y de pérdida de la postura corporal (fase V). La administración de agonistas de los opioides endógenos previa a la estimulación eléctrica, evita o disminuye la intensidad de la actividad epiléptica (1).
- c) Periodo postictal: Inmediatamente después de cada crisis generalizada, existe disminución de la respuesta a estímulos externos e inmovilidad, incluso en ocasiones se presentan automatismos, conductas explosivas y agresividad, entre otras (3). Durante este periodo, el umbral a la producción de una crisis epiléptica subsecuente se encuentra elevado (34). La administración de agonistas de los opioides endógenos aumenta la duración de este periodo refractario, mientras que la de antagonistas la disminuye y revierte algunos cambios conductuales (8,15).
- d) Periodo interictal: Las alteraciones que se detectan varios días después de la última crisis epiléptica, se consideran interictales (4). Se postula que dichos cambios son el resultado de actividad epiléptica crónica y/o de los mecanismos desarrollados para impedir la producción de una crisis epiléptica subsecuente (11). Animales que han presentado crisis generalizadas fase V de manera repetida, muestran elevación del umbral al dolor, aumento de la actividad locomotora y disminución del metabolismo neuronal; signos que se revierten con la administración de naloxona (4). Así mismo, aparece hipersensibilidad al efecto de la morfina, varias semanas después de la última crisis generalizada (33).

En 1979, Frenk y col. (15) realizaron los primeros estudios en los que se relacionó a la actividad epiléptica con la activación del sistema de los opioides endógenos. Estos investigadores reportaron que la administración sistémica de agonistas de los opioides endógenos a ratas con *kindling* amigdalino, aumenta la duración de la depresión postictal, mientras que antagonistas de dichos péptidos la disminuyen. Con base en sus datos Frenk y col. (15) postularon la posibilidad de que los opioides endógenos se liberen

después de la producción de actividad ictal, mediando así la depresión postictal e impidiendo la actividad epiléptica subsecuente. Más adelante, en 1981 Vindrola y col. (46) demostraron que los niveles tisulares de los opioides endógenos cerebrales de la rata, aumentan durante el desarrollo del *kindling* eléctrico amigdalino. En la actualidad se sabe que la síntesis de opioides endógenos aumenta desde la primera estimulación eléctrica tipo *kindling* (42) y que los niveles tisulares de estos neuropéptidos se elevan en diferentes estructuras del sistema nervioso durante las diferentes fases de dicho proceso (24,35,38). En estructuras como la amígdala cerebral, dichos cambios se detectan varios días después de la última crisis epiléptica (44).

Liberación de opioides endógenos durante el *kindling* amigdalino

Se conoce que la actividad epiléptica puede alterar los mecanismos de liberación de neurotransmisores (26). Evidencias experimentales indican de manera indirecta que la liberación de los opioides endógenos aumenta en respuesta a la actividad epiléptica (21, 37); sin embargo, debido a las bajas concentraciones de estos neuropéptidos en el tejido cerebral, así como a la ausencia de técnicas sensibles para detectar cambios de sus niveles extracelulares, ha sido difícil evaluar los cambios de la liberación de los opioides endógenos durante procesos como la epilepsia, en el animal íntegro.

Hoy en día, con la técnica de microdiálisis es posible caracterizar las concentraciones extracelulares de diferentes neurotransmisores en áreas cerebrales específicas, en animales en libre movimiento. Esta técnica tiene la ventaja de estudiar cambios temporales de los niveles de los neurotransmisores en el mismo sujeto *in vivo*, en una situación control y experimental, evitando así, cambios enzimáticos *postmortem* y los producidos por la disección del tejido cerebral. La microdiálisis consiste en implantar en una estructura cerebral específica una cánula concéntrica que se perfunde de manera continua y cuya parte activa se compone de una membrana permeable. A diferencia de la técnica de *push-pull*, en la microdiálisis, el medio de perfusión nunca está en contacto directo con el tejido cerebral, y la membrana de diálisis permite el paso por difusión de moléculas del medio extracelular al interior de la cánula y viceversa. En 1989, Maidment y col. (31) desarrollaron una técnica de microdiálisis asociada a un radioinmunoensayo de fase sólida. Dicha combinación ha permitido evaluar *in vivo* los niveles extracelulares de opioides endógenos en el caudado putamen de ratas (32). Para el radioinmunoensayo se utiliza un anticuerpo que reconoce a la N-Acetil-Beta-endorfina y a todos los péptidos endógenos activos que presentan la terminación Tyr-Gly-Gly-Phe, como la Met-enkefalina y Leu-enkefalina. Debido a sus características, es evidente que la aplicación de la microdiálisis para opioides endógenos en estudios de investigación básica, permite evaluar el papel de estos neuropéptidos durante diferentes pro-

cesos como: la epileptogénesis, el establecimiento de la actividad epiléptica, las alteraciones conductuales que se observan en pacientes y animales con actividad epiléptica crónica, así como en otros procesos fisiológicos y patológicos.

En un estudio reciente (41), se caracterizaron los cambios de liberación de los opioides endógenos en algunas estructuras cerebrales durante las diferentes fases del *kindling* amigdalino de la rata, utilizando la técnica de microdiálisis antes descrita (31). En animales en libre movimiento y sin previa experiencia con estimulación eléctrica, la primera estimulación tipo *kindling* en la amígdala cerebral, aumenta la liberación de los opioides endógenos en esta estructura durante los primeros minutos después de la estimulación. Contrariamente, en el caudado putamen y las cortezas frontal y temporal, no se detectan cambios significativos (fig. 1).

En ratas con *kindling* amigdalino establecido, la liberación de los opioides endógenos disminuye en la amígdala cerebral durante los primeros minutos después de presentar una crisis epiléptica fase V, efecto que es máximo (35 %) a los 20 min. De manera simultánea, la liberación de los opioides endógenos aumenta en las cortezas frontal y temporal durante los primeros 10 min después de presentar la crisis; después, los niveles regresan a los valores basales previos a la estimulación eléctrica. En el caudado putamen no se observan cambios importantes en la liberación de opioides endógenos inmediatamente después de producir una crisis fase V (fig. 1). Por medio de la técnica de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), el material inmunorreactivo que se libera durante la actividad epiléptica se identifica como metencefalina (41). Estas evidencias indican que la liberación de opioides

endógenos se modifica durante el *kindling* amigdalino, desde la primera estimulación eléctrica hasta presentar crisis generalizadas. Dicho efecto depende del grado de epileptogénesis, así como de cada estructura y no del contenido tisular de opioides endógenos.

Durante las fases tempranas del *kindling* amigdalino, el efecto inhibitor de los opioides endógenos liberados en la amígdala cerebral puede estar involucrado en mecanismos que disminuyen la propagación de la postdescarga de esta estructura a otras regiones cerebrales. Por otra parte, la disminución de los niveles extracelulares de los opioides endógenos en la amígdala durante las crisis fase V, puede ser el resultado del deterioro de los mecanismos de liberación de dichos péptidos producido por la actividad epiléptica, aun cuando sus niveles tisulares están elevados durante las fases tardías (44,46). Este fenómeno puede estar así facilitando la propagación de la actividad epiléptica a áreas cerebrales lejanas al foco epiléptico (27).

La liberación de opioides endógenos en estructuras como las cortezas frontal y temporal durante las fases tardías pueden jugar un papel importante en la supresión de la actividad epiléptica, así como en la producción de algunos cambios conductuales que se observan durante los periodos postictal e interictal (3, 4,12).

Resulta importante el hecho de que estructuras que tienen altos niveles tisulares de opioides como es el caudado putamen (29), no muestren cambios en la liberación de los opioides endógenos en respuesta a la estimulación eléctrica o crisis epilépticas; lo que sugiere que la activación de estos neuropéptidos durante la epileptogénesis depende del papel que jueguen las estructuras cerebrales durante dicho proceso y no del contenido tisular de los mismos.

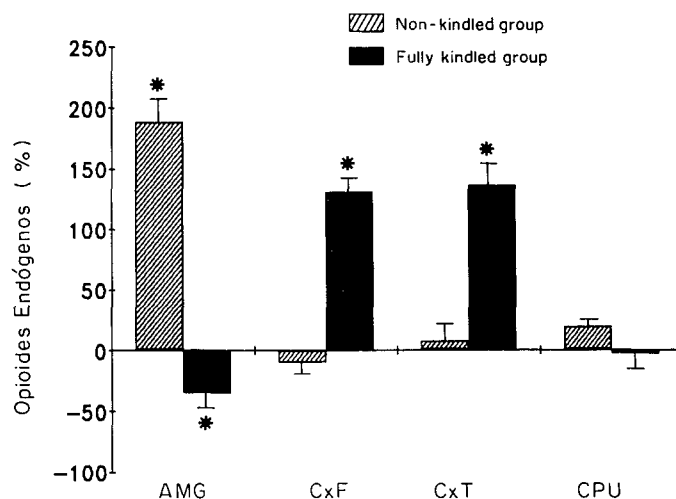


Figura 1. Concentraciones extracelulares de opioides endógenos en amígdala (AMG), corteza frontal (CxF), corteza temporal (CxT) y caudado putamen (CPU) de ratas durante las fases tempranas (barras en negro) y fases tardías (barras con líneas diagonales) del "kindling" amigdalino. Los valores están representados como el porcentaje de cambio de las concentraciones extracelulares de opioides endógenos después de cada estimulación eléctrica, con respecto a sus valores basales. Los valores significativamente diferentes están indicados con asteriscos ($p < 0.05$).

Niveles de receptores mu durante el *kindling* amigdalino

Las evidencias antes expuestas, indican que durante el desarrollo y establecimiento del *kindling* amigdalino, el sistema nervioso de los sujetos experimentales se encuentra crónicamente expuesto a niveles elevados de opioides endógenos extracelulares. Este efecto puede resultar en cambios importantes en los niveles de los receptores de esos neuropéptidos, similares a los que se producen con la administración crónica de agonistas de los opioides endógenos (43). Así mismo, se sabe que la activación de receptores de los opioides endógenos protege contra la producción de actividad epiléptica (2,45) y media algunos de los cambios conductuales observados durante el periodo postictal e interictal (3,4). Con anterioridad Holaday y col. (20), así como Hitzemann y col. (19), reportaron que la aplicación de choques electroconvulsivos en ratas eleva los niveles de los receptores de los opioides endógenos. Por su parte, Weiss y col., (47) encontraron una disminución importante de dichos receptores durante el periodo postictal. Sin embargo, debido a que estos autores utilizaron una técnica de autorradiografía *in vivo* con la que no es posible evitar la acción de los opioides endógenos sobre sus receptores, sus resultados sólo indican de manera indirecta, un aumento de la liberación de opioides endógenos durante la actividad epiléptica y no cambios de los niveles de receptores. Más adelante, Crain y col. (6), utilizando una técnica de autorradiografía *in vitro*, describieron una disminución significativa de los niveles de los receptores mu y delta de los opioides endógenos en el hipocampo de ratas con *kindling* amigdalino establecido.

En un estudio reciente (40) se evaluaron los cambios de los niveles de receptores mu durante diferentes fases del *kindling* amigdalino en algunas estructuras cerebrales de la rata. Se utilizó la técnica de autorradiografía *in vitro*, la cual permite estudiar los cambios de los niveles de los receptores, evitando la acción de neurotransmisores endógenos. Esta técnica

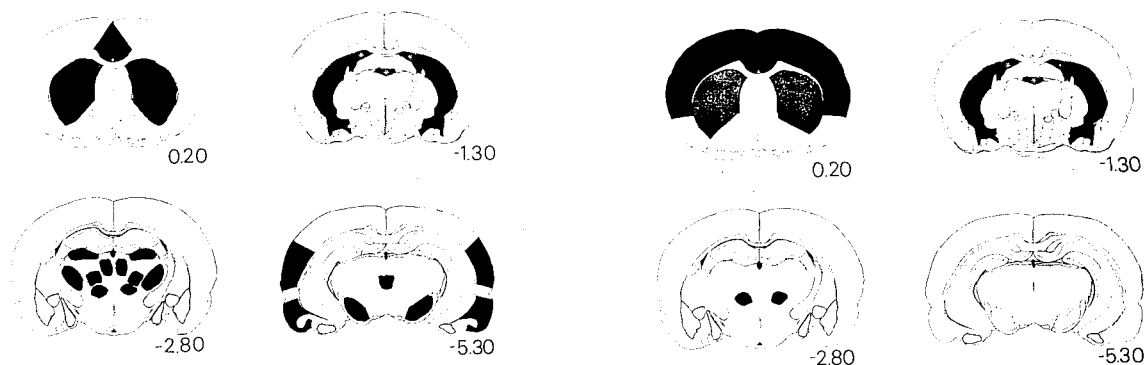


Figura 2. Diagrama en el que se indican las estructuras del cerebro de la rata en las que existe aumento significativo ($p < 0.05$) de los niveles de los receptores mu a las 24 horas después de haber presentado una crisis parcial (fase II-III). Los ventrículos laterales están marcados con asteriscos blancos. En milímetros se indica la posición caudal de cada plano coronal con respecto al bregma.

consiste en incubar durante un tiempo determinado rebanadas de 20 um de grosor de los cerebros de los sujetos experimentales, en un baño que contenga un ligando marcado con tritio o yodo radioactivo. En el caso de la autorradiografía para receptores mu se puede utilizar $^3\text{H-DAGO}$ a una concentración 2 nM, y con un tiempo de incubación de 60 min. Posteriormente, las rebanadas junto con estándares de concentraciones conocidas de radioactividad se exponen a una película fotográfica sensible a las partículas radioactivas. Por último, utilizando un sistema de video computarizado se determinan las densidades ópticas de estructuras específicas en las imágenes de la película. Las concentraciones finales de receptores (fentomolas por gramo de tejido) se calculan con base en la actividad específica del ligando radioactivo.

En dicho estudio (40) se observó que los niveles de receptores mu se modifican dependiendo de la fase del *kindling* eléctrico amigdalino. En las fases tempranas o crisis parciales los niveles de receptores mu aumentan en la región anterior de la amígdala, caudado putamen, tálamo, cortezas temporal y entorrinal, sustancia negra y sustancia gris periacueductal (fig. 2). Veinticuatro horas después de la última crisis fase V, existe un aumento significativo en las cortezas del cíngulo y frontoparietal, caudado putamen y núcleo talámico ventromedial (fig. 3). Veintiocho días después de haber presentado la última crisis epiléptica generalizada, los niveles de los receptores mu permanecen elevados en cortezas del cíngulo y frontoparietal y disminuyen en el complejo amigdalino, cortezas entorrinal, temporal, parietal, peririnal y sustancia gris (fig. 4).

Los datos antes expuestos indican que los niveles de los receptores mu se modifican durante el desarrollo del *kindling* amigdalino, dependiendo del grado de epileptogénesis. El aumento de los niveles de los receptores mu, pueden representar un mecanismo compensador que previene la propagación de la post-descarga inicialmente producida en el sistema límbico durante las fases tempranas, e intervienen en la terminación de la actividad epiléptica durante las fases tar-

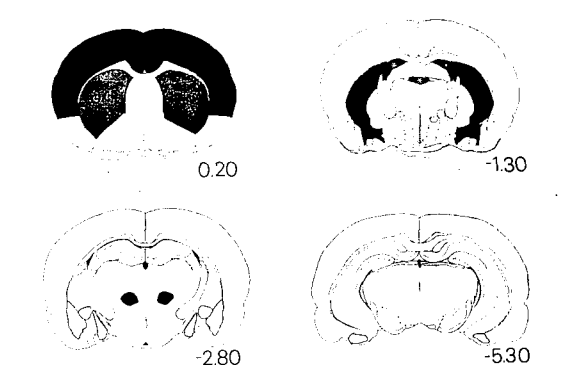


Figura 3. Diagrama en el que se indican las estructuras del cerebro de la rata en las que hay aumento significativo ($p < 0.05$) de los niveles de los receptores mu a las 24 horas después de haber presentado una crisis generalizada (fase V). Las anotaciones son las mismas que las descritas para la figura 2.

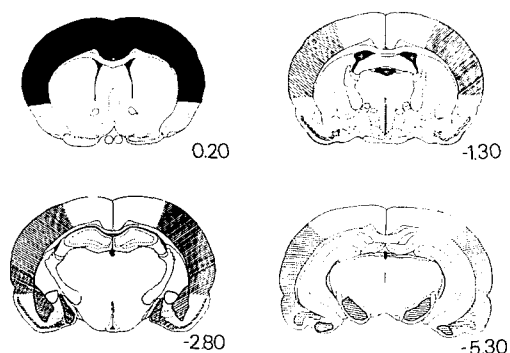


Figura 4. Diagrama en el que se muestran las estructuras del cerebro de la rata en las que existe aumento (áreas en negro) y disminución (áreas con líneas diagonales) significativos ($p < 0.05$) de los niveles de los receptores μ a los 28 días después de haber presentado la última crisis generalizada (fase V). Las anotaciones son las mismas que las descritas para la figura 2.

días. Así mismo, es posible que el aumento "paradójico" de los niveles de los receptores μ durante el proceso de epileptogénesis se deba a un aumento de la liberación de péptidos endógenos con efectos antiopioides durante el desarrollo del *kindling*, como es la somatostatina, la hormona liberadora de la tirotrina y la colecistoquinina (23).

Por otra parte, la reducción de los niveles de los receptores μ que se detecta en estructuras del sistema límbico varios días después de la última crisis epiléptica, es un dato paralelo al reportado en humanos con epilepsia del lóbulo temporal (16) y que puede representar reducción de la actividad neuronal en dichas estructuras. Estos cambios neuronales pueden ser los responsables de los cambios conductuales observados en pacientes y animales con crisis epilépticas repetidas.

Conclusiones

Con base en las evidencias ya descritas, se apoya el hecho de que el sistema de opioides endógenos se activa durante el desarrollo del *kindling* amigdalino de la rata. Sin embargo, es importante hacer notar la existencia de discordancias regionales entre los cam-

bios de las concentraciones tisulares de los opioides endógenos, la liberación de estos péptidos *in vivo*, así como las alteraciones de los niveles de los receptores de opioides endógenos. En el caso de la amígdala cerebral, en la que existe aumento significativo de los niveles tisulares y de la liberación de los opioides endógenos durante el *kindling*, no existen cambios de los niveles de receptores μ . Por el contrario, el caudado putamen, muestra aumento de los niveles de los receptores μ , pero no presenta alteraciones de los niveles tisulares ni de la liberación de opioides endógenos durante dicho proceso.

Se sabe que la corteza cerebral juega un papel importante en la propagación de la actividad epiléptica (14,30). Las evidencias experimentales antes descritas indican aumento de la liberación y contenido tisular de opioides endógenos en esta estructura, así como el incremento de los niveles de los receptores μ durante el *kindling* amigdalino (35,44). Con base en esos datos es posible postular que la activación del sistema de opioides endógenos en la corteza cerebral, interviene en la supresión de la actividad epiléptica durante los periodos postictal e interictal.

Por otra parte, debido a una posible dependencia a los opioides endógenos liberados durante el *kindling* amigdalino, las alteraciones conductuales interictales como agresión y excitabilidad pueden ser el resultado de un proceso semejante al síndrome de abstinencia, ya que dichas alteraciones remiten produciendo una nueva crisis epiléptica (12).

Estudios futuros deberán enfocarse a la caracterización de los cambios temporales de la liberación de opioides endógenos en otras estructuras durante el desarrollo del *kindling* amigdalino, periodo postictal e interictal y su correlación con cambios en los niveles de sus receptores. Con dichos conocimientos será posible evaluar el papel de la activación del sistema de los opioides endógenos en el proceso de epileptogénesis, en la depresión postictal y en las alteraciones conductuales que resultan de la actividad epiléptica crónica.

Agradecimientos

El presente trabajo fue parcialmente financiado por los proyectos 0396-M9108 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y 3F05-TW0489-0251 otorgado por la Fundación Fogarty (NIH). Se agradece al señor Raúl Cardoso por su excelente trabajo de ilustración.

REFERENCIAS

- ALBERTSON T E, JOY R M, STAERK L G: Modification of kindled amygdaloid seizures by opiate agonists and antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 228:620-627, 1984.
- BOHME G A, STUTZMANN J M, ROQUES B P, BLANCHARD J C: Effects of selective μ and delta-opioid peptides on kindled amygdaloid seizures in rats. *Neurosci Lett*, 74:227-231, 1987.
- CALDECOTT-HAZARD S, ENGEL J Jr: Limbic postictal events: anatomical substrates and opioid receptor involvement. *Prog Neuro-Psychopharmacol & Biol Psychiat*, 11:389-418, 1987.
- CALDECOTT-HAZARD S: Interictal changes in behavior and cerebral metabolism in the rat: opioid involvement. *Exp Neurol*, 99:73-83, 1988.
- CHUGANI H T, ACKERMANN R F, CHUGANI D C, ENGEL J Jr: Opioid-induced epileptogenic phenomena: anatomical, behavioral, and electroencephalographic features. *Ann Neurol*, 15:361-368, 1984.
- CRAIN B J, CHANG, K J, MCNAMARA J O: An *in vitro* autoradiographic analysis of μ and delta opioid binding in the hippocampal formation of kindled rats. *Brain Res*, 412:343-351, 1987.

7. DUGGAN A W, NORTH R A: Electrophysiology of opioids. *Pharmacol Rev*, 35:221-281, 1983.
8. ENGEL J Jr, ACKERMANN R F: Interictal EEG spikes correlate with decreased, rather than increased, epileptogenicity in amygdaloid kindled rats. *Brain Res*, 190:543-548, 1980.
9. ENGEL J Jr, KUHL D E, PHELPS M E, MAZZIOTTA J C: Interictal cerebral glucose metabolism in partial epilepsy and its relation to EEG changes. *Ann Neurol*, 12:510-517, 1982.
10. ENGEL J Jr, WILSON C L: *Evidence for Enhanced Synaptic Inhibition in Epilepsy*. En: P L Morselli, G Nistico, K G Lloyd, R G: Fariello J, Engel Jr (eds.). Raven Press, Nueva York, 1-13, 1986.
11. ENGEL J Jr, BANDLER R, GRIFFITH N C, CALDECOTT-HAZARD S: Neurobiological evidence for epilepsy-induced interictal disturbances. *Adv Neurol*, 55:97-111, 1991.
12. ENGEL J Jr, ROCHA L: *Interictal Behavioral Disturbances: A Search for Molecular Substrates*. En: J Engel Jr, C Wasterlain, E A Cavalheiro, U Heinemann, G Avanzini (eds.). Elsevier, Amsterdam, 341-350, 1992.
13. FERNANDEZ-GUARDIOLA A, ROCHA L, PELLICER F, GUTIERREZ R, CALVO J M: Massed amygdaloid kindling in encephale-isoles cats: its facilitation by naloxone. *Epilepsy Res*, 4:55-62, 1989.
14. FERNANDEZ-MAS R, MARTINEZ A, GUTIERREZ R, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: EEG frequency and time domain mapping study of the cortical projections of temporal lobe amygdala after discharge during kindling in the cat. *Epilepsy Res*, 13:23-34, 1992.
15. FRENK H, ENGEL J Jr, ACKERMANN R F, SHAVIT Y, LIEBESKIND J C: Endogenous opioids may mediate postictal behavioral depression in amygdaloid-kindled rats. *Brain Res*, 167:435-440, 1979.
16. FROST J J, MAYBERG H S, FISHER R S, DOUGLASS K H, DANNALS R F, LINKS J M, WILSON A A, RAVERT H T, ROSENBAUM A E, SNYDER S H, WAGNER H N: Mu-opiate receptors measured by positron emission tomography are increased in temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol*, 23:231-237, 1988.
17. GODDARD G V, MCINTYRE D C, LEECH C K: A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol*, 25:295-330, 1969.
18. HARDY C, PANKSEPP J, ROSII J III, SOLOVICK A J: Naloxone facilitates amygdaloid kindling in rats. *Brain Res*, 194:293-297, 1980.
19. HITZEMANN R J, HITZEMANN B A, BLATT S, MEYERHOFF J L, TORTELLA F C, KENNER J R, BELENKY G L, HOLADAY J W: Repeated electroconvulsive shock: effect on sodium dependency and regional distribution of opioid-binding sites. *Mol Pharmacol*, 31:562-566, 1987.
20. HOLADAY J W, BELENKY G L: Opiate-like effects of electroconvulsive shock in rats: a differential effect of naloxone on nociceptive measures. *Life Sci*, 27:1929-1938, 1980.
21. HONG J S, GILLIN J C, YANG H Y T, COSTA E: Repeated electroconvulsive shocks and the brain content of endorphins. *Brain Res*, 177:273-278, 1979.
22. HONG J S, YOSHIKAWA K, KANAMATSU T, MCGYNTY J F, MITCHELL C L, SABOL S L: Repeated electroconvulsive shocks alter the biosynthesis of enkephalin and concentration of dynorphin in the rat brain. *Neuropeptides*, 5:557-560, 1985.
23. IADAROLA M J, SHIN C, MCNAMARA J O, YANG H Y T: Changes in dynorphin, enkephalin and cholecystokinin content of hippocampus and substantia nigra after amygdala kindling. *Brain Res*, 365:185-191, 1986.
24. IADAROLA M J, FLORES C M, YANG H Y T: Release of [Met5]-Enkephalin-Arg6-Gly7-Leu8 immunoreactivity into rat cerebrospinal fluid by electroconvulsive shock. *Biochem Pharmacol*, 36:801-802, 1987.
25. JIANGUO C, XUEKONG X: A study on opioid peptides in CSF of patients with epilepsy. *Epilepsy Res*, 6:141-145, 1990.
26. KAMPFIUS W, HUISMAN E, VEERMAN M J, LOPES DA SILVA F H: Development of changes in endogenous GABA release during kindling epileptogenesis in rat hippocampus. *Brain Res*, 545: 33-40, 1991b.
27. KANEKO Y, WADA J A, KIMURA H: *Is The Amygdala Neuron Necessary For Amygdaloid Kindling?* En: J A Wada (eds.). Raven Press, Nueva York, 249-264, 1981.
28. KELSEY J E, BELLUZZI J D: Endorphin mediation of postictal effects of kindled seizures in rats. *Brain Res*, 253:337-340, 1982.
29. KHACHATURIAN H, LEWIS E, SKHAFAEV K H, WATSON S: Anatomy of the central nervous system opioids system. *Trends Neurosci*, 3:111-118, 1985.
30. LIEB J P, DASHEIFF R M, ENGEL J JR: Role of frontal lobes in the propagation of mesial temporal lobe seizures. *Epilepsia*, 32:822-837, 1991.
31. MAIDMENT N T, BRUMBAUGH D R, RUDOLPH V D, ERDELYI E, EVANS C J: Microdialysis of extracellular endogenous opioid peptides from rat brain *in vivo*. *Neuroscience*, 33:549-557, 1989.
32. MAIDMENT N T, SIDDALL B, RUDOLPH V D, EVANS C: Postmortem changes in rat brain extracellular opioid peptides revealed by microdialysis. *J Neurochem*, 56:1980-1984, 1991.
33. MANSOUR A, DOYLE R, KATZ R, VALENSTEIN E S: Long-lasting changes in morphine sensitivity following amygdaloid kindling in mice. *Physiol Behav*, 27:1117-1120, 1981.
34. MUCHA R F, PINEL J P J: Postseizure inhibition of kindled seizures. *Exp Neurol*, 54:266-282, 1977.
35. NARANJO J R, IADAROLA M J, COSTA E: Changes in the dynamic state of brain proenkephalin-derived peptides during amygdaloid kindling. *J Neurosci Res*, 16:75-87, 1986.
36. OLSON G A, OLSON R D, KASTIN A J: Endogenous opiates: 1988. *Peptides*, 10:1253-1280, 1989.
37. POST R M, PUTNAM F, CONTEL N R, GOLDMAN B: Electroconvulsive seizures inhibit amygdala kindling: implications for mechanisms of action in affective illness. *Epilepsia*, 25:234-239, 1984.
38. PRZEWLOCKI R, LASON W, STACH R, KACZ D: Opioid peptides, particularly dynorphin, after amygdaloid-kindled seizures. *Regul Peptides*, 6:385-392, 1983.
39. RACINE R J: Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroenceph clin Neurophysiol*, 32:281-294, 1972.
40. ROCHA L, ACKERMANN R F, NASSIR Y, CHUGANI H T, ENGEL J Jr: Characterization of mu opioid receptor binding during amygdala kindling in rats and effects of chronic naloxone pretreatment: an autoradiographic study. *Epilepsy Res*, 14:195-208, 1993a.
41. ROCHA L, MAIDMENT N T, EVANS C J, ACKERMANN R F, ENGEL J Jr: Microdialysis reveals changes in extracellular opioid peptide levels in amygdala induced by amygdaloid kindling stimulation. *Exp Neurol*, 126, 277-283, 1994 (en prensa).
42. SHINODA H, NADI N S, SCHWARTZ J P: Alterations in somatostatin and proenkephalin mRNA in response to a single amygdaloid stimulation versus kindling. *Mol Brain Res*, 11:221-226, 1991.
43. STEECE K A, LEE J M, FIELDS J Z, DE LEON-JONES F A, RITZMANN R F: Differential down-regulation of delta opioid binding sites during physical dependence on methionine enkephalin in the rat. *Life Sci*, 44:1449-1455, 1989.
44. TALAVERA E, OMAÑA-ZAPATA I, ASAI M, CONDESLARA M: Regional brain IR-Met-, IR-Leu-enkephalin concentrations during progress and full electrical amygdaloid kindling. *Brain Res*, 485:141-148, 1989.
45. TORTELLA F C, ECHEVERRIA E, ROBLES L, MOSBERG H I, HOLADAY J W: Anticonvulsant effects of mu (DAGO) and delta (DPDPE) enkephalins in rats. *Peptides*, 9:1177-1181, 1988.
46. VINDROLA O, BRIONES R, ASAI M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Amygdaloid Kindling enhances the enkephalin content in the rat brain. *Neurosci Lett*, 21:39-43, 1981.
47. WEIS S, SEEGER T, OSTROWSKI N, POST R, PERT A: Alterations in opiate receptor occupancy following amygdaloid kindling. *Soc Neurosci Abstr*, 11:1068, 1985.