



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

**LABORATORIO DE NEUROFISIOLÓGÍA DE LA
CONDUCTA Y CONTROL MOTOR**

**Caracterización de las crisis de ausencia en la rata
taiep hembra adulta bajo la administración central de
prolactina**

Tesis para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

PRESENTA:

M.C. Emmanuel Salvador Hernández Alvarado

DIRECTORES DE TESIS:

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Abril de 2021

La presente tesis se realizó gracias a la beca nacional de maestría otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT); CVU No. 952483.

Y al apoyo a los proyectos del CONACyT de Ciencia Básica con números 243333 y 243247 a favor de Ma. del Carmen Cortés Sánchez y José Ramón Eguibar Cuenca, respectivamente.

El proyecto también fue parcialmente financiado por el proyecto VIEP-BUAP para el Cuerpo Académico en Neuroendocrinología BUAP-CA-288.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN | 5 |
| 1. ABSTRACT | 7 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 9 |
| 2.1 Epilepsia | 9 |
| 2.2 Crisis de Ausencia | 11 |
| 2.2.1 Epidemiología | 12 |
| 2.2.2 Fisiopatología | 12 |
| 2.2.3 Hallazgos clínicos durante las crisis de ausencia | 16 |
| 2.2.4 Diagnóstico | 17 |
| 2.2.5 Tratamiento..... | 17 |
| 2.3 Modelos animales de crisis de ausencia..... | 19 |
| 2.3.1 Modelos de crisis de ausencia inducidos farmacológicamente..... | 19 |
| 2.3.2 Modelos de crisis de ausencia genéticamente determinados..... | 20 |
| a) La rata GAERS | 22 |
| b) La rata WAG/Rij | 23 |
| c) La rata <i>taiep</i> | 24 |
| 2.3.3 Influencia hormonal en las crisis de ausencia..... | 27 |
| 2.4 Prolactina | 30 |
| 2.4.1 Estructura | 30 |
| 2.4.2 Síntesis y regulación de su secreción..... | 31 |
| 2.4.3 Transporte en sangre y variaciones en su concentración..... | 33 |
| 2.4.4 Receptor y señalización intracelular | 35 |
| 2.4.5 Funciones | 36 |
| 2.4.6 Prolactina en el sistema nervioso central. | 38 |
| 2.5 Participación de la prolactina en condiciones patológicas | 42 |
| 3. ANTECEDENTES | 46 |
| 3.1 La rata <i>taiep</i> , un modelo de tubulinopatía | 46 |
| 3.3.1 La tubulinopatía H-ABC en la rata <i>taiep</i> | 54 |
| 4. JUSTIFICACIÓN | 56 |

| | |
|--|----|
| 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 57 |
| 6. HIPÓTESIS | 58 |
| 6.1 Variables de estudio..... | 58 |
| 7. OBJETIVOS | 58 |
| 7.1 Objetivo general..... | 58 |
| 7.2 Objetivos particulares..... | 58 |
| 8. METODOLOGÍA..... | 59 |
| 8.1 Animales de experimentación | 59 |
| 8.2 Prolactina | 59 |
| 8.3 Descargas espiga-onda | 59 |
| 8.4 Instrumentos para la investigación..... | 59 |
| 8.5 Técnicas y procedimientos..... | 61 |
| 8.5.1 Condiciones ambientales..... | 61 |
| 8.5.2 Preparación prequirúrgica..... | 61 |
| 8.5.3 Cirugía estereotáxica | 61 |
| 8.5.4 Ovariectomía | 63 |
| 8.5.5 Cuidados posquirúrgicos | 63 |
| 8.5.6 Reemplazo hormonal y toma de frotis vaginal | 63 |
| 8.5.7 Habitación preregistro..... | 63 |
| 8.5.8 Registro control..... | 64 |
| 8.5.9 Registros tras la administración de prolactina | 64 |
| 8.5.10 Evaluación de la correcta colocación de la cánula i.c.v. | 64 |
| 8.6 Procesamiento de los datos..... | 64 |
| 9. IMPLICACIONES ÉTICAS | 66 |
| 10. RESULTADOS | 67 |
| 11. DISCUSIÓN | 75 |
| 12. CONCLUSIONES..... | 84 |
| 13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 85 |

1. RESUMEN

Las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia generalizada de presentación no motora que se caracterizan conductualmente por la presencia de episodios de pérdida transitoria de la conciencia, sin pérdida del tono postural. En el electroencefalograma (EEG) se presenta un patrón de actividad eléctrica característico denominado descargas espiga-onda. En modelos animales de crisis de ausencia las descargas espiga-onda se modifican durante el periodo del embarazo y de la lactancia. Se ha propuesto que las hormonas propias de estos periodos reproductivos influyen en la expresión de las crisis de ausencia.

La prolactina es una de las hormonas que presenta variaciones en su concentración sérica en ambos periodos reproductivos. Esta hormona actúa en múltiples regiones del sistema nervioso central, incluyendo las áreas relacionadas con las crisis de ausencia como el tálamo y la corteza cerebral. En diversos modelos animales se ha demostrado que la prolactina actúa como un factor neuroprotector ante lesiones cerebrales y además es capaz de disminuir la presentación e intensidad de ciertos tipos de epilepsia de presentación motora.

La rata *taiep* es un modelo animal de tubulinopatías que presenta una leucodistrofia caracterizada por hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva. Se ha mostrado que este animal exhibe una conducta similar al de las crisis de ausencia y el patrón característico de descargas espiga-onda en el EEG, siendo un modelo animal genéticamente determinado de crisis de ausencia.

El objetivo de este estudio consistió en determinar el efecto de la administración central de prolactina sobre las descargas espiga-onda en las ratas *taiep* hembras adultas.

Se utilizaron ratas *taiep* hembras de 6 meses de edad a las cuales se les implantaron 3 electrodos de tornillo de acero inoxidable y un electrodo bipolar profundo para el registro de EEG, una cánula de acero inoxidable en el ventrículo lateral izquierdo para la administración de prolactina, 2 electrodos de alambre de nicromio para el electromiograma y uno más para el electrooculograma. Posteriormente se les realizó una ovariectomía bilateral y reemplazo hormonal con 2 µg de 17-β estradiol para mantenerlas en etapa de estro persistente.

Se realizaron 4 registros de EEG de 12 horas de duración con 48 horas de separación entre estos; el primero en condiciones control y los siguientes tras administrar prolactina de rata vía i.c.v a dosis de 0.5, 1 y 2 µg, respectivamente. Se evaluó la frecuencia de crisis de ausencia, la duración media, la latencia para la aparición de la primera crisis de ausencia y la duración intercrisis en periodos de una hora y en el tiempo total del registro. El nivel de significancia estadística se estableció con un valor de $P < 0.05$.

La administración central de 2 μg de prolactina incrementó en un 120% la frecuencia total media de crisis de ausencia presentadas con respecto al control ($P < 0.01$).

La duración de las crisis de ausencia se incrementó hasta un 100% a la séptima hora del registro tras la administración de 0.5 μg de prolactina (< 0.001). La dosis de 1 μg generó un incremento sostenido en la duración de las crisis de ausencia desde la segunda hasta la octava hora del registro, con un máximo de 82% a la séptima hora ($P < 0.001$). La dosis de 2 μg de prolactina incrementó la duración de las crisis de ausencia desde la segunda hasta la octava hora del registro, su incremento máximo, de 98%, se presentó a la octava hora ($P < 0.001$).

Las dosis de 0.5 y 2 μg de prolactina disminuyeron significativamente la latencia a la primera crisis de ausencia hasta a un 9% y un 16% respecto al control ($P < 0.05$). La administración central de prolactina disminuyó significativamente la duración intercrisis total con las tres dosis probadas ($P < 0.001$).

En conclusión, la prolactina fue capaz de incrementar la frecuencia total y la duración media de las crisis de ausencia, así como disminuir la latencia a la primera crisis de ausencia y la duración intercrisis en ratas *taiep* hembras adultas. Este trabajo muestra que la prolactina puede actuar en el circuito tálamo-cortical e influir en los mecanismos de iniciación y cese de las crisis de ausencia.

1. ABSTRACT

Absence seizures are a type of generalized non-motor epilepsy that are behaviorally characterized by the presence of episodes of transient loss of consciousness, without loss of the postural tone. The electroencephalogram (EEG) shows a characteristic pattern of electrical activity with spike-wave discharges (SWD). In animal models of absence seizures, the discharges changed during pregnancy and lactation period. It has been suggested that sexual hormones play a main role during these reproductive phases that are capable to impact the expression of absence seizures.

Prolactin is one of the hormones that changes its serum concentration in both reproductive periods. This peptide hormone acts in multiple regions in the central nervous system, including areas related to the induction and maintenance of absence seizures such as the thalamus and cerebral cortex. In animal models it has been shown that prolactin acts as a neuroprotective factor against brain lesions and it is also capable of reducing intensity and duration of certain types of motor epilepsies.

Taiep rat is an animal model of tubulinopathies that presents a leukodystrophy characterized by initial hypomyelination followed by progressive demyelination. In fact, recently we are able to demonstrate uniting magnetic resonance imaging and genetic mutation on tubulin β -4A (TUBB4A) in both humans and *taiep* rats, being the later the animal model of human leukodystrophy hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC). It has been demonstrated that *taiep* rats had absence seizures.

The aim of this study was to determine the effect of central prolactin administration on spike-wave discharges in adult female *taiep* rats.

6-month-old female *taiep* rats were implanted with three stainless-steel screw electrodes and a deep bipolar electrode in the hippocampus for the EEG recording, a stainless-steel cannula was implanted above the left lateral ventricle for the administration of prolactin, we also implanted three nichrome wire electrodes for the recording of electromyogram and electrooculogram. Subsequently, they underwent a bilateral ovariectomy and hormone replacement with 2 μ g of 17- β estradiol benzoate to keep them in persistent estrus phase.

Four 12-hour EEG recordings were made with 48 hours interval between them. First under control conditions and then the subsequent after the administration of prolactin at 0.5, 1 and 2 μ g doses. The frequency of absence seizures, the mean duration, the latency for first absence seizure, and the inter-seizure duration were evaluated in bins of one hour duration and along recording time. The level of statistical significance was established with a value of $P < 0.05$.

The central administration of 2 µg of prolactin increased by 120% the total mean frequency of SWD presented with respect to control saline administration ($P < 0.01$).

The duration of absence seizures increased up to 100% at the seventh hour of the recording period after administration of 0.5 µg of prolactin ($P < 0.001$). With the 1-µg prolactin administration the duration of the absence seizures increased since second to eighth hour of recording period, with a maximum of 82% at the seventh hour ($P < 0.001$). The 2-µg dose of prolactin also increased the duration of absence seizures from the second to the eighth hour of recording period, being its maximum increase of 98% at the eighth hour ($P < 0.001$).

The doses of 0.5 and 2 µg of prolactin significantly decreased the latency for first absence seizure to 9% and to 16%, respectively ($P < 0.05$). Central administration of prolactin significantly decreased the total inter-seizure duration with three doses tested ($P < 0.001$).

In conclusion, prolactin was able to increase the total frequency and mean duration of absence seizures, as well as decrease the latency to the first absence seizure and the inter-seizure duration in adult female *taiep* rats. This work shows for the first time that prolactin can act in the thalamic-cortical circuit that is responsible to induce and maintain the characteristic spike-wave discharges and influence the mechanisms of initiation and cessation of absence seizures.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Epilepsia

La palabra epilepsia proviene del vocablo griego "*epilambanein*" (επιλαμβάνειν) que significa 'atacar' o 'apoderarse de', este término hace referencia a que la enfermedad se debía al apoderamiento del individuo por dioses, demonios o seres mágicos (Magiorkinis *et al.*, 2010; Temkin, 1994a). Aunque también se ha propuesto que etimológicamente *epilepsia* (επιληψία) hace referencia a que la enfermedad 'ataca' los sentidos o se 'apodera' de la mente de las personas (Temkin, 1994a).

A pesar de su origen místico, ya para el siglo V a.C., Hipócrates de Cos, en su tratado "La enfermedad sagrada" decretó que la epilepsia se debe a un trastorno en el cerebro y no a cuestiones sobrenaturales (Alsina, 1970; Magiorkinis *et al.*, 2010). Hipócrates llamó a la epilepsia "*la gran enfermedad*", término del cual se originó el francés "*grand mal*" que fue universalmente utilizado hasta finales del siglo XIX para referirse a la epilepsia de tipo convulsiva (Haynes y Bennet, 1992; Temkin, 1994a).

Fue Claudio Galeno quién, utilizando los postulados de Hipócrates, definió inicialmente a la epilepsia como "*un ataque de la mente y los sentidos junto con una caída repentina, en el que algunos individuos presentan convulsiones*" (Magiorkinis *et al.*, 2010). Sin embargo, no fue sino hasta 1873 que el Dr. John Hughlings Jackson determinó que la etiología de la epilepsia corresponde a una actividad eléctrica anómala y postuló que la epilepsia es "*una condición en la que hay una descarga transitoria, repentina, excesiva, rápida y local de la materia gris*" (Temkin, 1994b; Wolf, 2014).

La epilepsia es definida por la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE, de sus siglas en inglés) y por la Oficina Internacional de Epilepsia (IBE, de sus siglas en inglés), como un trastorno cerebral caracterizado por una predisposición persistente a generar crisis epilépticas, y también por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales de esta afección (Fisher *et al.*, 2017, 2014, 2005).

A su vez, una crisis epiléptica se define como la alteración funcional del sistema nervioso central (SNC) debida a la presencia de actividad eléctrica anormal, de presentación paroxística e hipsincrónica en la corteza cerebral, que se asocia con signos o síntomas neurológicos variables, dependiendo del tipo que se trate (Fisher *et al.*, 2017, 2014).

La clasificación más reciente para las crisis epilépticas propuesta por la ILAE en 2017, considera una categorización acorde a las manifestaciones conductuales que se presentan al comienzo de las crisis, pudiendo ser de origen focal o generalizado o bien, de origen desconocido (Fisher *et al.*, 2017). Para las crisis focales se considera además si la conciencia se conserva o se ve alterada y si el inicio de la

crisis tiene o no presentación motora (Fisher *et al.*, 2017). En lo que respecta a las crisis de inicio generalizado estas siempre presentan una alteración de la conciencia, y se pueden dividir en dos tipos, las crisis motoras, que corresponderían al término antiguo de *grand mal*, y las crisis no motoras o *petit mal*, denominadas también como ausencias o crisis de ausencia (Fisher *et al.*, 2017; véase Figura 1).

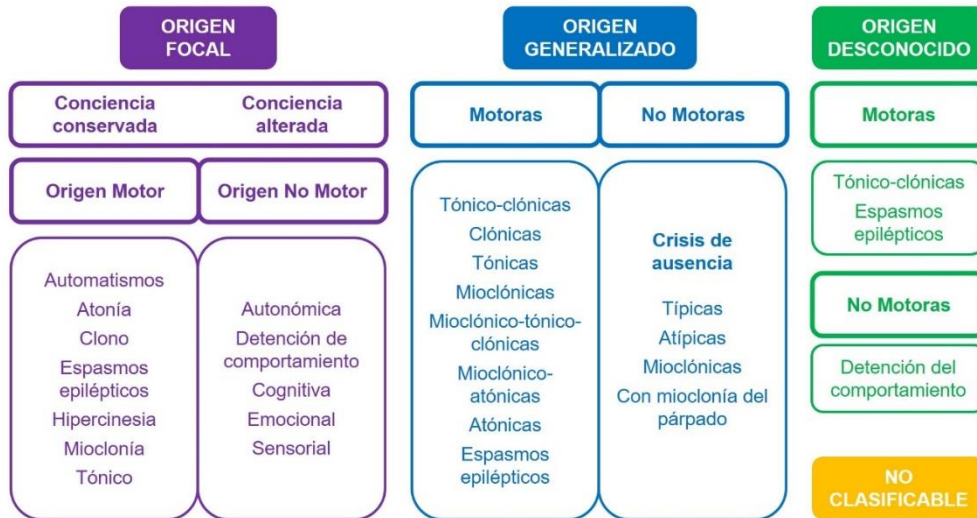


Figura 1. Clasificación operacional de los tipos de crisis epilépticas propuesta por la ILAE en el año 2017. Las crisis de origen focal pueden ser clasificadas por la conservación o la alteración de la conciencia y de acuerdo con su origen motor o no motor. Mientras que las crisis de origen generalizado se clasifican por su presentación ya sea motora o no motora, estas últimas son mejor conocidas como crisis de ausencia. Finalmente se presenta un apartado para aquellas crisis cuyo origen aún se desconoce y otro apartado para algún tipo de crisis que no pueda ser clasificada debido a información inadecuada o imposibilidad para ubicarla en otra categoría. Modificada de Fisher *et al.*, 2017.

Las crisis epilépticas de origen focal son las más comunes en la población general, representan entre 50 y 65% del total de crisis, siendo las que presentan alteración de la conciencia las más frecuentes (Conde-Pérez *et al.*, 2013; Forsgren *et al.*, 1996; Hauser *et al.*, 1993; Lavados *et al.*, 1992). Por otra parte, entre el 30 y el 45% de las crisis epilépticas son de origen generalizado, y de estas, las crisis tónico-clónicas representan un 50%, mientras que las crisis de ausencia representan hasta un 15% (Conde-Pérez *et al.*, 2013; Forsgren *et al.*, 1996; Hauser *et al.*, 1993).

En la población pediátrica, las crisis de origen generalizado son las más frecuentes, con un 50 a 55% del total de crisis epilépticas (Durá-Travé y Yoldi-Petri, 2007; Hauser, 1992). Las crisis tónico-clónicas constituyen un 50% de estas crisis, mientras que las crisis de ausencia son más frecuentes en los infantes que en los adultos y representan desde un 10 hasta un 30% de las crisis de origen generalizado (Blanco-Hernández *et al.*, 2008; Durá-Travé y Yoldi-Petri, 2007; Gastaut *et al.*, 1975; Hauser, 1992).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado que existen más de 50 millones de personas en el mundo con epilepsia, y cada año se presentan alrededor de 5 millones de casos nuevos (OMS, 2019). En lo que respecta a México se ha podido estimar que existen entre 1.2 y 2.4 millones de personas con epilepsia, con una prevalencia de 1% en la población general, mientras que en la población infantil se presenta en hasta 1.8% de los casos (Alonso-Vanegas y Rubio, 2013).

2.2 Crisis de Ausencia

El término crisis de ausencia se utiliza para referirse a aquellos tipos de epilepsia de origen generalizado que se presentan sin manifestaciones motoras evidentes (Fisher *et al.*, 2017). Una crisis de ausencia típica consiste en la pérdida transitoria de la conciencia, sin pérdida del tono postural, con una recuperación espontánea a la normalidad posterior a la crisis (Ropper y Samuels, 2011; Segan, 2018).

La primera descripción de esta enfermedad se le atribuye a François Poupert, que en 1705 relató el caso de una niña que padecía un tipo de epilepsia caracterizada por episodios de inmovilidad y pérdida de los sentidos, y si estos se presentaban mientras ella mantenía una conversación, al finalizar la crisis retomaba la conversación en el punto en que había hecho la pausa, sin recordar o tener conciencia de haber presentado este estado (Brigo *et al.*, 2018; Temkin, 1994a).

Debido a que este tipo de epilepsia presenta un aislamiento del medio exterior, a estos episodios se les denominó *ausencias* y, además, por su comportamiento característico sin manifestaciones motoras se les nombró también como *epilepsia mitior* (epilepsia ligera) o *le petit mal* (el pequeño mal; Brigo *et al.*, 2018).

El primer registro electroencefalográfico de una crisis de ausencia fue realizado por Hans Berger el 13 de noviembre de 1931, el estudio se realizó en una paciente de 18 años de edad que presentaba de crisis de ausencia y crisis tónico-clónicas generalizadas (Jung y Berger, 1979). Sin embargo, el registro no fue publicado sino hasta 1938, ya que consideró inicialmente que el patrón observado en el EEG podría deberse a señales de ruido causadas por parpadeos y movimientos faciales (Berger, 1938).

En 1935 Gibbs, Davis y Lennox describieron por primera vez la actividad eléctrica de una crisis de ausencia registrada en un electroencefalograma (EEG) como “*una descarga de ondas de gran amplitud, de 100 a 300 μ V a una frecuencia de 3 por segundo ...las ondas son muy lisas y de forma sinusoidal, por lo general incluyen una punta aguda que interrumpe la onda cerca de su porción ascendente*” (Gibbs *et al.*, 1935; véase Figura 2).

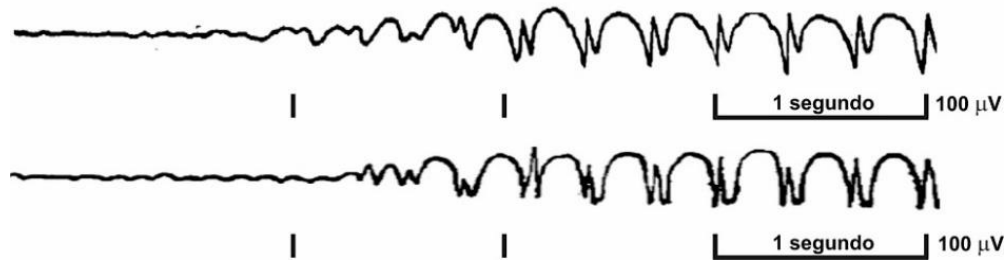


Figura 2. Ejemplos de los primeros registros electroencefalográficos publicados, obtenidos de dos pacientes con crisis de ausencia. Se puede observar el patrón característico de este tipo de epilepsia, caracterizado por una espiga de amplio voltaje que se continúa con una onda de larga duración, el patrón se repite a una frecuencia de 3 Hz. Modificada de Gibbs *et al.*, 1935.

Por estas características, el patrón electroencefalográfico se denominó descargas espiga-onda, un requisito fundamental para el diagnóstico de las crisis de ausencia (Segan, 2018).

2.2.1 Epidemiología

Las crisis de ausencia son características de la infancia, su incidencia máxima se da de los 4 a los 8 años de edad, con un pico máximo de aparición a los 6 años (Segan, 2018). Debido a su alta incidencia, se ha reportado que estas crisis pueden representar hasta un 30% de las crisis de origen generalizado en niños menores de 15 años (Gastaut *et al.*, 1975). Su prevalencia en la población general es de alrededor de 0.1 casos por cada 1,000 personas, mientras que en la población pediátrica se estima un rango de 0.4 a 0.7 casos por cada 1000 habitantes (Pazzaglia y Frank-Pazzaglia, 1976).

Con respecto al sexo, se ha reportado que las crisis de ausencia se presentan con una preponderancia de 2 a 5 veces más en niñas con respecto a los niños, representando un 2.5% de las crisis epilépticas en niños, mientras que en las niñas podrían representar hasta un 12% (Hauser *et al.*, 1991; Matricardi *et al.*, 2014; Waaler *et al.*, 2000).

2.2.2 Fisiopatología

El mecanismo responsable de la generación de las características conductuales y electroencefalográficas que presentan los pacientes con crisis de ausencia se desconoce. Sin embargo, diversos ensayos realizados en modelos animales, así como en estudios de imagenología funcional llevados a cabo en humanos han proporcionado grandes avances (Depaulis y Charpier, 2018; Matricardi *et al.*, 2014). De tal forma que ahora se sabe que estas crisis se deben a una alteración en el patrón rítmico de las oscilaciones que ocurren entre el tálamo y la corteza cerebral (Depaulis y Charpier, 2018; Johns, 2014).

▪ El circuito tálamo-cortical

El tálamo es la principal estructura neuronal que regula las conexiones entre el sistema sensorial periférico y la corteza cerebral (Gardner y Johnson, 2013). Sus neuronas, de naturaleza glutamatérgica excitatoria, actúan como neuronas de relevo para todas las modalidades sensoriales, a excepción del olfato; y proyectan a las capas III-IV y V-VI de las respectivas cortezas sensoriales primarias (Gardner y Johnson, 2013; Johns, 2014). Desde la capa cortical VI surgen proyecciones de neuronas cortico-talámicas glutamatérgicas que establecen una conexión recíproca con las mismas neuronas tálamo-corticales para modular su actividad (Destexhe y Sejnowski, 2003).

Ambos grupos neuronales poseen conexiones además con el núcleo reticular del tálamo (NRT), una estructura compuesta principalmente de neuronas de naturaleza GABAérgica, que al ser estimuladas envían señales hacia las demás regiones talámicas, inhibiendo su actividad (Blumenfeld, 2005; Chang y Lowenstein, 2003; Destexhe y Sejnowski, 2003; véase Figura 3).

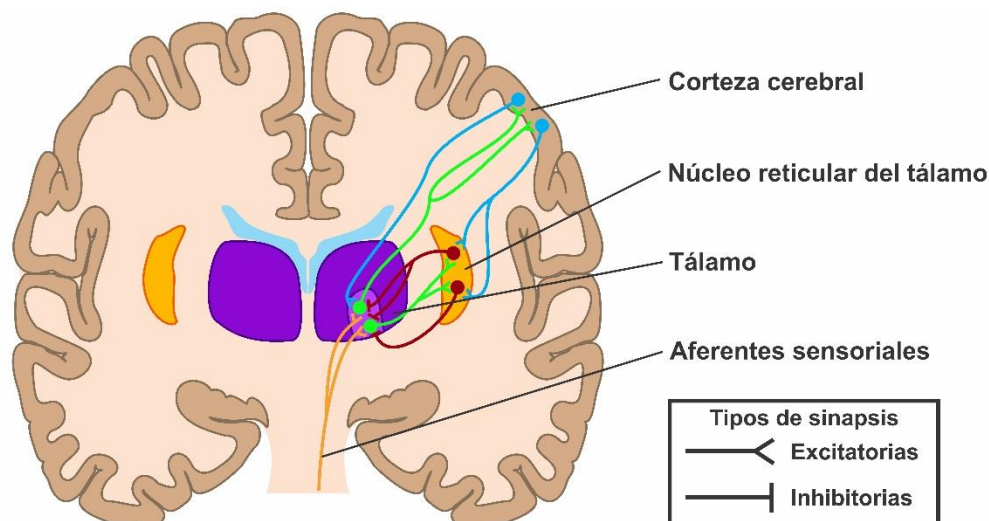


Figura 3. Representación esquemática del circuito tálamo-cortical. Las neuronas tálamo-corticales (en verde) envían la información recibida de las fibras aferentes sensoriales (en naranja) hacia las neuronas de la corteza cerebral (en azul), las cuales, a su vez modulan la actividad de las neuronas del núcleo reticular del tálamo (en rojo). Estos dos últimos tipos neuronales a su vez envían proyecciones hacia las neuronas tálamo-corticales para modular su actividad. Elaborada a partir de Chang y Lowenstein, 2003 & Khosravani y Zamponi, 2006.

Durante la vigilia, las neuronas tálamo-corticales son moduladas principalmente por las fibras de las aferentes sensoriales, así como por proyecciones noradrenérgicas, serotoninérgicas y dopaminérgicas del tronco del encéfalo (Chang y Lowenstein, 2003; Gardner y Johnson, 2013). En consecuencia, estas neuronas descargan la información recibida en forma de potenciales de acción de manera tónica y desincronizada hacia la corteza cerebral, lo que genera un patrón electroencefalográfico de alta frecuencia y baja amplitud, conocido como ritmo β (Kostopoulos, 2000; McGinty y Szymusiak, 2017; véase Figura 4-A).

Por otra parte, al inicio del sueño, la información de las aferentes sensoriales y el tronco cerebral disminuye, permitiendo que el NRT ejerza una mayor influencia en el tálamo (Kostopoulos, 2000). Las neuronas tálamo-corticales son entonces fuertemente inhibidas, deteniendo momentáneamente el paso de la información sensorial desde el tálamo a la corteza cerebral (Kostopoulos, 2000). No obstante, estas células se reactivan de este estado inhibitorio y generan un modo de descarga en ráfaga de múltiples potenciales de acción a una alta frecuencia (Destexhe y Sejnowski, 2003; McCormick y Huguenard, 1992). Esta señal despolarizante se transmite a la corteza, donde se presenta una secuencia de ondas rítmicas de gran amplitud en el EEG a una frecuencia de 10 a 15 Hz, son los denominados husos del sueño, característicos de la etapa II del sueño de ondas lentas (Chang y Lowenstein, 2003; McGinty y Szymusiak, 2017; véase Figura 4-B).

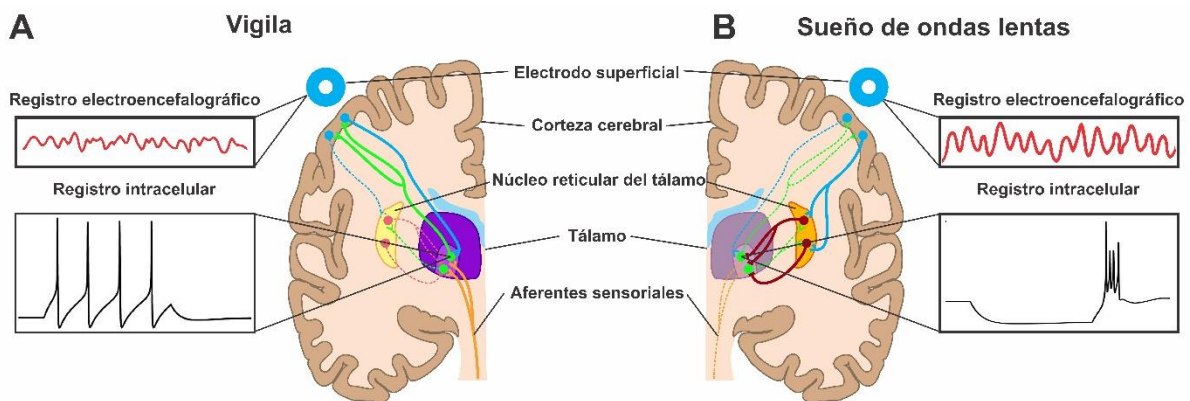


Figura 4. Representación esquemática del circuito tálamo-cortical y su relación con un patrón electroencefalográfico. **A.** Se puede observar que durante el periodo de vigilia las neuronas del tálamo (color verde) reciben constantes descargas provenientes de las aferentes sensoriales (color amarillo), generando una serie de potenciales de acción en modo tónico (registro intracelular), esta señal es enviada a la corteza cerebral, la activación asincrónica de diversas áreas corticales genera un registro electroencefalográfico de alta frecuencia y baja amplitud denominado ritmo β . **B.** Durante el sueño de ondas lentas las aferencias sensoriales hacia el tálamo disminuyen, mientras que las provenientes del NRT (color rojo) se ven incrementadas induciendo un estado hiperpolarizante en estas neuronas. Sin embargo, las neuronas se reactivan y generan múltiples potenciales de acción (registro intracelular) que son transmitidos hacia la corteza cerebral de forma coordinada, lo que lleva a la aparición de husos de sueño en el EEG. Las líneas punteadas representan señales intermitentes, y el tono de color disminuido en el NRT y en el tálamo representan una baja actividad. Elaborada a partir de Chang y Lowenstein, 2003; Destexhe y Sejnowski, 2003 & McGinty y Szymusiak, 2017.

Este modo de disparo en ráfaga se debe principalmente a que tanto las neuronas del NRT como las tálamo-corticales cuentan con la presencia de canales de calcio dependientes de voltaje tipo T ($Ca_v3.2$), los cuales poseen un umbral de activación bajo, por lo que ante una hiperpolarización se provoca su activación, despolarizando a la célula, y dando pie a la generación de una meseta con múltiples potenciales de acción superpuestos, proceso conocido como "pico de umbral bajo" o "rebote post-inhibitorio" (Destexhe y Sejnowski, 2003; Khosravani y Zamponi, 2006; Peloquin *et al.*, 2006).

- **Rol del circuito tálamo-cortical en la crisis de ausencia**

Se ha propuesto que las descargas espiga-onda características de las crisis de ausencia son debidas en gran parte a la activación anómala del circuito tálamo-cortical (Depaulis y Charpier, 2018). En lo que respecta a la corteza cerebral, múltiples evidencias, tanto en humanos como en modelos animales, sugieren la presencia de un foco epiléptico hiperexcitable localizado en las inmediaciones de la corteza somatosensorial y la corteza motora primaria (Carney *et al.*, 2010; Meeren *et al.*, 2002; Moeller *et al.*, 2011).

Las neuronas corticales en los modelos de crisis de ausencia han mostrado poseer una mayor arborización, lo que facilita la propagación de la señal aberrante (Depaulis *et al.*, 2016). Así mismo, se ha reportado que presentan mutaciones en el receptor para el ácido γ -aminobutírico (GABA) y a su vez, muestran una expresión incrementada de canales de Na^+ voltaje-dependientes como $\text{Na}_v1.1$ y $\text{Na}_v1.6$ (Klein *et al.*, 2004; Touret *et al.*, 2007; Yalçın, 2012). Estas alteraciones conllevan a un estado de hiperexcitabilidad y la capacidad de generar corrientes de despolarización aberrantes que se transmiten fácilmente hacia las estructuras talámicas (Depaulis y Charpier, 2018; Touret *et al.*, 2007).

Además, en el tálamo se han identificado algunas anomalías, principalmente mutaciones en los canales $\text{Ca}_v3.2$ y en el receptor para el neurotransmisor GABA, lo que facilita la generación de las oscilaciones rítmicas en el NRT y la aparición de *rebotes post-inhíbitorios* por las neuronas tálamo-corticales (Kostopoulos, 2000; Peloquin *et al.*, 2006).

Por tanto, al inicio de una crisis de ausencia, el foco epiléptico genera una amplia descarga neuronal que se disemina hacia el NRT, que a su vez hiperpolariza a una gran cantidad de neuronas tálamo-corticales y propicia un amplio *rebote post-inhíbitorio* y la generación de ráfagas de potenciales de acción que se transmiten de vuelta hacia la corteza cerebral, este proceso facilita la reactivación del foco epiléptico y establece un circuito reverberante entre el tálamo y la corteza cerebral (Depaulis *et al.*, 2016; Jarre *et al.*, 2017; véase Figura 5).

La ráfaga de potenciales de acción en las neuronas tálamo-corticales se disemina hacia la corteza cerebral generando su despolarización de manera sincrónica, esta actividad eléctrica es la responsable de la espiga característica registrada en el EEG, mientras que la onda lenta siguiente es debida al estado quiescente que se presenta en la corteza cerebral cuando se interrumpen sus aferencias sinápticas provenientes de las neuronas tálamo-corticales que se encuentran entonces inhibidas por el NRT (Depaulis *et al.*, 2016; Polack *et al.*, 2007; véase Figura 5).

Debido a que durante una crisis de ausencia las neuronas tálamo-corticales se encuentran inhibidas la mayor parte del tiempo por el NRT, el relevo de la información sensorial que proporcionaban estas células hacia la corteza cerebral se

encuentra interrumpido mientras dure el episodio, esto podría explicar la desconexión con el medio exterior o la ausencia que se presenta durante este tipo de epilepsia (Johns, 2014; Khosravani y Zamponi, 2006).

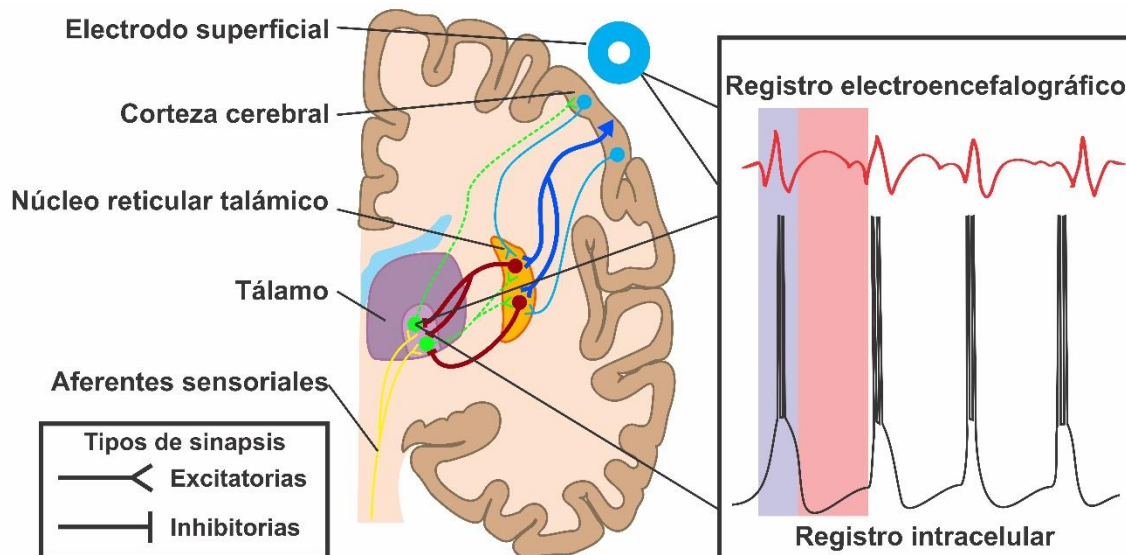


Figura 5. Representación esquemática del circuito tálamo-cortical en las crisis de ausencia. Se puede observar la presencia de un foco ectópico localizado en la corteza cerebral (color azul rey) que genera la activación constante de las neuronas del NRT (color rojo), que inhiben a las neuronas tálamo-corticales (color verde), impidiendo el paso de la información sensorial. En el lado derecho se observa un registro intracelular de las neuronas del tálamo y el patrón electroencefalográfico característico de las crisis de ausencia a nivel cortical. Se puede notar que la despolarización neuronal se corresponde con la espiga en el EEG (delimitado en color morado), mientras que el periodo de hiperpolarización permite el registro de la onda lenta (delimitado en color rosa). Las líneas punteadas representan señales intermitentes, y el tono morado de intensidad disminuida en el tálamo representa una baja actividad. Elaborada a partir de Chang y Lowenstein, 2003 & Depaulis *et al.*, 2016.

2.2.3 Hallazgos clínicos durante las crisis de ausencia

Una crisis de ausencia se caracteriza conductualmente por la pérdida súbita de la conciencia sin disminución del tono postural; sí la persona se encontraba realizando alguna actividad esta cesa mientras dure el episodio (Ropper y Samuels, 2011). Suele presentarse con fijación de la mirada y manifestaciones motoras sutiles, tales como parpadeo o movimiento ligero de los músculos de la cara o de los dedos de las manos (Ropper y Samuels, 2011; Simon *et al.*, 2010).

También pueden presentarse otro tipo de movimientos conocidos como automatismos que consisten en movimientos musculares repetitivos como lamerse los labios, masticar u olfatear (Ropper y Samuels, 2011). Al finalizar el episodio la persona restablece el contacto completo con el exterior sin evidencia de secuelas postictales, adoptando su actividad previa (Kessler *et al.*, 2017; Ropper y Samuels, 2011; Simon *et al.*, 2010). Las crisis de ausencia se presentan repetidas veces a lo

largo del día, cada una con una duración de entre 2 hasta 30 segundos (Matricardi *et al.*, 2014; Segan, 2018).

2.2.4 Diagnóstico

Debido a que durante una crisis de ausencia no suelen presentarse anomalías motoras exorbitantes, a diferencia de lo que sucede con otros tipos de crisis epilépticas, el diagnóstico suele retrasarse y no es sino hasta que se relaciona con deficiencias en un contexto social o de desempeño escolar que se inicia el estudio del padecimiento (Ropper y Samuels, 2011). Dado que la mayor prevalencia de esta patología se presenta en la etapa escolar, uno de los primeros indicios suele ser un bajo rendimiento académico. Los estudios detallados revelan que las inatenciones se deben a estos episodios de ausencia (Barragán-Peré, 2013; Ropper y Samuels, 2011).

Para confirmar el diagnóstico de crisis de ausencia es necesaria la realización de un EEG, generalmente asociado a un registro en video para establecer la relación entre el estado de ausencia y el patrón electroencefalográfico característico (Ropper y Samuels, 2011).

En el registro de EEG durante un episodio de crisis de ausencia predomina un patrón ictal caracterizado por los complejos espiga-onda de predominancia frontal conformados por un disparo intenso en forma de espiga, seguido por una onda lenta (Ropper y Samuels, 2011). Estos complejos espiga-onda se presentan con una frecuencia de 3 Hz durante todo el episodio, al finalizar, el EEG retorna a la normalidad sin evidencia de secuelas postictales (Barragán-Peré, 2013; Matricardi *et al.*, 2014; véase Figura 6).

2.2.5 Tratamiento

Los fármacos más eficaces para el tratamiento de las crisis de ausencia son la etosuximida, el ácido valproico y la lamotrigina (Glauser *et al.*, 2010). La etosuximida y el ácido valproico son capaces de reducir la aparición de las crisis de ausencia en un 53 a 58% de los pacientes tratados, mientras que la lamotrigina muestra una tasa de éxito del 29% (Glauser *et al.*, 2010). El mecanismo de acción de la etosuximida consiste en la inhibición de los canales de Ca^{2+} tipo T en el tálamo, lo que impide el *rebote post-inhibitorio* relacionado a este tipo de epilepsia (Porter *et al.*, 2016; Segan, 2018). Mientras que las acciones del ácido valproico y la lamotrigina se relacionan con el bloqueo de canales de Na^{+} dependientes de voltaje (Porter *et al.*, 2016).

Por el contrario, se ha determinado que la administración de agonistas del GABA como la carbamazepina, que suele utilizarse en el tratamiento de otros tipos de epilepsia, incrementa la duración y frecuencia de estas crisis, lo que probablemente

es debido a un incremento en la hiperpolarización de las neuronas tálamo-corticales, lo que facilita la activación de los canales de Ca^{2+} tipo T (Manning *et al.*, 2003).

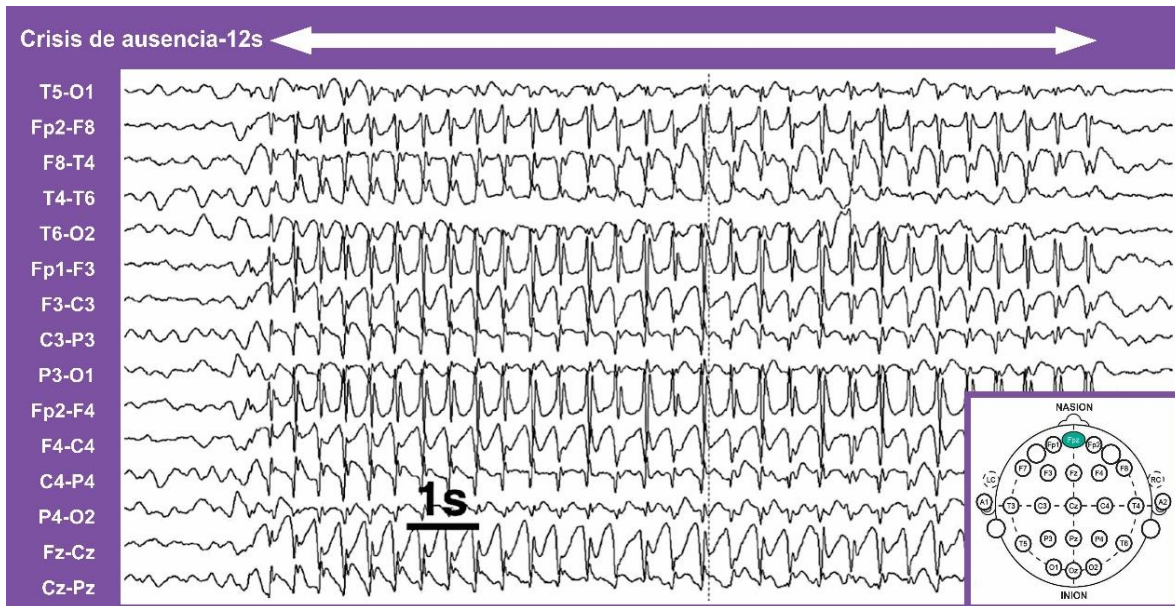


Figura 6. Electroencefalograma de una paciente con crisis de ausencia típica. Se puede notar un episodio de crisis de ausencia con el patrón característico de descargas espiga-onda que se presenta en casi todas las derivaciones del EEG (área delimitada por la flecha blanca) con una duración de 12 segundos, posterior al cual se reestablece la actividad electroencefalográfica normal. En la esquina inferior derecha se muestra la representación esquemática en la conformación de registro 10:20 de los sitios de colocación de los electrodos en la superficie del cuero cabelludo. Modificada de Durá-Travé y Yoldi-Petri, 2006.

2.3 Modelos animales de crisis de ausencia

La aparición impredecible de las crisis de ausencia y las limitantes que presupone la investigación clínica en pacientes pediátricos constituyen los principales desafíos en el estudio de esta patología, esto ha llevado al desarrollo de diversos modelos animales de este tipo de epilepsia a lo largo de los años (Cortez y Snead III, 2005).

2.3.1 Modelos de crisis de ausencia inducidos farmacológicamente.

La necesidad inicial de un modelo animal surgió para determinar si era la corteza cerebral o las estructuras subcorticales las responsables de la generación de las crisis de ausencia (Kostopoulos, 2017). Para esto, se requería un animal de fácil acceso y que compartiera características electroencefalográficas similares al ser humano, los investigadores encontraron en el gato el animal idóneo para este fin (Avoli, 2012; Kostopoulos, 2017). Sin embargo, los primeros estudios demostraron que las crisis de ausencia podían inducirse tanto con la estimulación eléctrica o química en la corteza cerebral (Marcus y Watson, 1966), así como de estructuras subcorticales, en especial los núcleos del tálamo (Jasper y Droogleever-Fortuyn, 1946; Weir, 1964).

Posteriormente, Prince y Farrel demostraron que la administración intramuscular de altas dosis de penicilina en gatos inducía patrones electroencefalográficos similares al de las crisis de ausencia (Prince y Farrell, 1969). Este resultado fue de gran utilidad ya que se podía entonces modificar la actividad de diversas estructuras y circuitos neuronales de manera indirecta y observar si se presentaban cambios en el EEG (Avoli, 2012). Gracias a diversos estudios en este modelo animal se demostró que es necesaria la integridad funcional y anatómica tanto del tálamo como de la corteza cerebral para generar y mantener la ritmicidad de las descargas espiga-onda (Avoli, 2012; Kostopoulos, 2000).

Para investigar los componentes fisiopatológicos involucrados en este tipo de epilepsia y conocer los mecanismos de acción de diversos fármacos se utilizó un animal de fácil reproducción y manejo en el cual las crisis de ausencia pudieran inducirse farmacológicamente conservando la integridad del tálamo y la corteza cerebral (Kostopoulos, 2017). El animal adecuado fue la rata, en la cual con la administración de γ -hidroxi-butirato (GHB) o de pentilinetetrazol (PTZ) se produjo la aparición de crisis de ausencia similares a las presentadas por el ser humano (Godschalk *et al.*, 1976; Kostopoulos, 2017; Marescaux *et al.*, 1984).

El GHB es el metabolito activo de la γ -butirolactona, que posee actividad como un agonista del receptor para el GABA, genera la aparición de crisis 2 a 5 minutos después de su administración, las descargas tienen una frecuencia de 7 a 9 Hz y se acompañan de una conducta de arresto motor, mioclonías faciales y espasmos musculares en la base de las vibrisas (Kostopoulos, 2017). Al igual que en la patología humana, las crisis inducidas por GHB pueden ser bloqueadas si se

administran fármacos antiepilépticos como la etosuximida, el ácido valproico y la trimetadiona (Cortez y Snead III, 2005).

El PTZ es un antagonista para los receptores GABA_A que induce descargas corticales en la rata a los 5 minutos de su administración a una frecuencia de 7 a 9 Hz presentando una conducta similar a la observada en el modelo de GHB (Cortez y Snead III, 2005). La administración previa de etosuximida inhibe la generación de descargas inducidas por la administración previa de PTZ, actuando tanto a nivel de las neuronas tálamo-corticales como en las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo (Avoli, 2012). Existen otros modelos animales inducidos farmacológicamente como son los que emplean 4,5,6,7 tetrahidroxi-isoxazolpiridinol (THIP), un agonista GABAérgico, la picrotoxina o la bicuculina, antagonistas del receptor GABA_A, sin embargo estos no se utilizan ampliamente (Kostopoulos, 2017).

En general, estos modelos farmacológicos han permitido entender la capacidad intrínseca del tálamo para producir las oscilaciones de las crisis de ausencia y al mismo tiempo observar el rol predominante del GABA en esta patología que determina la frecuencia que domina las oscilaciones de las crisis de ausencia (Avoli, 2012; Kostopoulos, 2017).

Ahora se cuenta además con dos modelos animales en los cuales pueden estudiarse las crisis de ausencia atípicas, el modelo AY-9944 y el modelo MAM-AY (Kostopoulos, 2017). El compuesto AY-944 [trans-1,4-bis(2-clorobenzilaminometil)-ciclohexano-dihidrocloro] es una sustancia que inhibe la reducción de 7-dehidrocolesterol a colesterol y es capaz de inducir crisis de ausencia atípicas administrándolo a la rata en los días postnatales 2, 6, 8, 14 y 20. Estas crisis se presentan con una frecuencia de 4 a 6 Hz y son inhibidas por la administración sistémica de etosuximida (Cortez *et al.*, 2001; Kostopoulos, 2017).

Si las ratas crías son expuestas intrauterino durante el día 15 de su gestación a MAM (metilazoximetanolacetato, un agente antimotóxico) y posteriormente se realiza el protocolo de AY-9944 se obtiene el mismo patrón de descargas; sin embargo estas son refractarias al tratamiento con etosuximida y ácido valproico (Kostopoulos, 2017). Ambos modelos animales muestran un inicio gradual de la crisis y presentan movimientos voluntarios durante el episodio, su frecuencia es más lenta que en las crisis de ausencia típicas y también muestran evidencia de deterioro cognitivo, por lo que se han utilizado para investigar los mecanismos por los cuales las crisis de ausencia atípicas confieren un resultado tan pobre al tratamiento farmacológico a largo plazo en los niños afectados por este trastorno (Kostopoulos, 2017).

2.3.2 Modelos de crisis de ausencia genéticamente determinados.

En la mayoría de los modelos inducidos farmacológicamente las descargas se presentan únicamente tras la aplicación del fármaco y, en muy pocos casos, duran unas cuantas semanas posteriores a la inducción farmacológica. Esto es

contrastante con las crisis de ausencia en humanos, donde estas suelen presentarse durante varios años de manera impredecible (Depaulis y van Luijtelaar, 2005; Robinson y Gilmore, 1980). Si bien, estos modelos han contribuido ampliamente para comprender la manera en que se generan las crisis de ausencia, la falta de recurrencia de estas descargas no ha permitido estudiar del todo el desarrollo de esta patología (Depaulis y van Luijtelaar, 2005).

Desde la década de los 80's del siglo pasado se cuenta con modelos animales genéticamente determinados en los cuales las crisis de ausencia se presentan de manera espontánea (Jarre *et al.*, 2017). Sin embargo, dado que las principales manifestaciones conductuales de este tipo de epilepsia son fijación de la mirada e inmovilidad del animal, la manera en que han surgido la mayoría de estos modelos ha sido mediante la detección inesperada y fortuita de descargas espiga-onda en registros electroencefalográficos realizados en estos animales debido a otras circunstancias (Depaulis y van Luijtelaar, 2005; Jarre *et al.*, 2017).

Cabe aclarar que la presencia de las típicas descargas espiga-onda en el EEG no es suficiente para establecer un animal como modelo de crisis de ausencia. Por tanto, el Dr. Snead ha propuesto los criterios que debería cumplir un animal para ser considerado un modelo experimental de crisis de ausencia (Cortez y Snead, 2005):

1. EEG y comportamiento similar a la condición humana.
2. Fácil reproducibilidad y predictibilidad.
3. Que el evento sea cuantificable.
4. Respuesta farmacológica.
5. Perfil de desarrollo único.
6. Potenciación de las crisis por agonistas directos e indirectos del GABA.
7. Implicación de los mecanismos tálamo-corticales en la generación de las crisis.
8. Bloqueo de las crisis por antagonistas del receptor GABA_B.

Dentro de los modelos genéticamente determinados se han descrito principalmente cinco cepas de ratones que derivan de procesos endogámicos, los cuales se caracterizan por presentar ataxia cerebelosa hacia las 2-4 semanas de edad, estos son el ratón Tottering (Fletcher *et al.*, 1996), el ratón Letárgico (Burgess *et al.*, 1997), el ratón Ducky (Barclay *et al.*, 2001), el ratón Stargazer (Noebels *et al.*, 1990) y el ratón Mocha^{2j} (Eguibar y Cortés, 2010a; Kantheti *et al.*, 2003). Para el análisis de esta ataxia cerebelosa se realizaron registros de EEG en los cuales se encontró la presencia de las descargas características de las crisis de ausencia (Burgess y Noebels, 1999; Noebels, 2017).

Estas cepas de ratones presentan descargas corticales con la morfología de los complejos espiga-onda a una frecuencia promedio de 5 a 7 Hz y responden adecuadamente al tratamiento con fármacos antiepilépticos utilizados en las crisis de ausencia. Se ha descrito que las crisis de ausencia en estos modelos son

debidas a solo una mutación genética específica, relacionada en todos los modelos con el canal de Ca²⁺ tipo T (Eguibar y Cortés, 2010a; Noebels, 2017; véase Tabla 1). Las descargas espiga-onda se presentan en hasta 25 cepas endogámicas de ratones, algunas de ellas relacionadas con ataxia, sin embargo, aún no se cuenta con amplia información para considerarlos como modelos monogénicos de crisis de ausencia (Jarre *et al.*, 2017; Letts *et al.*, 2014).

Tabla 1. Mutaciones presentes en los modelos monogénicos de crisis de ausencia

| Mutante | Cromosoma | Gen | Proteína del canal de Ca ²⁺ mutada |
|---------------------------|-----------|-----------------|--|
| Tottering | 8 | <i>Cacna1a</i> | Subunidad α 1. |
| Letárgico | 2 | <i>Cacnb4</i> | Subunidad β 4. |
| Ducky | 9 | <i>Cacna2d2</i> | Subunidad α 2 δ . |
| Stargazer | 15 | <i>Cacng2</i> | Subunidad γ 2. |
| Mocha^{2j} | 10 | <i>AP3d</i> | Proteína adaptadora de la subunidad δ . |

Elaborada a partir de los datos de Eguibar y Cortés, 2010a & Noebels, 2017.

En la rata, de manera similar han surgido principalmente tres modelos que presentan crisis de ausencia de manera espontánea, la rata GAERS, la rata WAG/Rij, y la rata *taiep*.

a) La rata GAERS

A principios de la década de los 80's del siglo pasado, el grupo de Marguerite Vergnes y Christian Marescaux en Estrasburgo, Francia, estaba seleccionando un modelo de epilepsia parcial en ratas (Marescaux *et al.*, 1992; Vergnes *et al.*, 1982), sin embargo, mientras realizaban un registro electroencefalográfico basal en ratas Wistar observaron que más del 30% presentó de manera espontánea descargas espiga-onda en el EEG. Mediante un proceso de cruce endogámico entre estas ratas se logró obtener una cepa en la cual el 100% de los animales poseían esta característica (Vergnes *et al.*, 1982). A esta cepa se le nombró rata con epilepsia de ausencia genética de Estrasburgo (GAERS, de las siglas en inglés Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg), de manera análoga, de las ratas que no presentaban crisis de ausencia se realizó un cruce endogámico para obtener ratas sin epilepsia, para considerarlas como un control no epiléptico (Marescaux *et al.*, 1992).

Los complejos espiga-onda de esta rata se caracterizan por tener una frecuencia de 7 a 11 Hz, una amplitud de 300 a 1000 μ V, una duración entre 0.5 y 40 segundos y se presentan de 40 a 60 por minuto (Depaulis *et al.*, 2016; Vergnes *et al.*, 1982). Durante estos episodios las ratas permanecen conductualmente quietas, con la mirada fija y presentan espasmos de las vibrisas o de los músculos faciales y de la nuca, este patrón electroencefalográfico y conductual puede ser interrumpido inmediatamente si se aplica algún tipo de estímulo sensitivo fuerte e inesperado (Vergnes *et al.*, 1982).

Se ha descrito que las crisis de ausencia en este modelo animal comienzan a presentarse hacia los 30 días de edad, a una cantidad y duración muy baja, con la edad ambas incrementan, alcanzando su pico máximo hacia los 6 y 18 meses respectivamente, una vez que aparecen las crisis estas continúan durante toda la vida del animal (Depaulis y van Luijtelaaar, 2005; Marescaux *et al.*, 1992). Además, las descargas presentan relación con el ciclo circadiano y el nivel de vigilia, presentándose su mayoría durante la fase de oscuridad y en el periodo de vigilia quieta o de somnolencia (Depaulis y van Luijtelaaar, 2005; Jarre *et al.*, 2017).

La rata GAERS presenta un perfil farmacológico similar a los pacientes con crisis de ausencia, ya que las crisis son inhibidas por etosuximida, trimetadiona, ácido valproico, topiramato, pregabalina y levetiracetam, y son exacerbadas por agonistas de GABA como PTZ, GHB, THIP y penicilina, así como fármacos como carbamazepina, fenitoína, gabapentina, vigabatrina y tiagabina (Depaulis y van Luijtelaaar, 2005; Marescaux *et al.*, 1992).

Este modelo animal posee una mutación en el gen *Cacna1h* que codifica para el canal de calcio tipo T Cav3.2, lo que les confiere a las neuronas tálamo-corticales una recuperación más rápida de la inactivación (Depaulis *et al.*, 2016). Se ha observado además que posee una mayor excitabilidad a nivel de la corteza somatosensorial, con una mayor actividad glutamatérgica y una disminución en los niveles de GABA (Depaulis *et al.*, 2016; Jarre *et al.*, 2017). En estudios de potenciales de campo se ha mostrado que las descargas características se originan en la región facial de la corteza somatosensorial y desde esta región se diseminan al resto de la corteza cerebral (Jarre *et al.*, 2017).

Por último, recientemente se ha planteado que la rata GAERS presenta además déficits cognitivos y alteraciones de la conducta semejante a la psicosis y al trastorno depresivo mayor, motivo por el cual ahora analizan la posible relación entre la epilepsia y estas patologías (Jarre *et al.*, 2017).

b) La rata WAG/Rij

La rata WAG/Rij (del inglés Wistar Albino Glaxo strain, bred in Rijswijk, Netherlands) es una cepa endogámica creada en 1924 a partir de la rata Wistar en los laboratorios Glaxo en el Reino Unido y posteriormente fue llevada y reproducida en Rijswijk en los Países Bajos (Festing, 1979; van Luijtelaaar y Coenen, 1986). Fue en 1986 que Gilles van Luijtelaaar y Anton Coenen reportaron por primera vez la presencia de descargas espontáneas aberrantes presentes en el EEG de esta rata mientras analizaban su patrón de sueño-vigilia (van Luijtelaaar y Coenen, 1986).

Este animal presenta descargas de dos tipos, las primeras se corresponden con los característicos complejos espiga-onda con una amplitud de 100 a 450 μ V, una frecuencia de 7.5 a 9.5 Hz y una duración de 1 a 30 segundos, presentándose en promedio 18 descargas por hora (van Luijtelaaar y Coenen, 1986). El segundo tipo de descargas corresponde a complejos con espigas de polaridad inversa, ondas en

una posición opuesta y una menor amplitud de 80 a 215 μV y con frecuencias de 7.6 hasta 8.3 Hz, (van Luijtelaar y Coenen, 1986). Durante el primer tipo de descargas la rata permanece inmóvil, llegando a presentar espasmos de las vibrisas y los párpados y aceleración de la respiración, sólo estas descargas se consideran parte de las crisis de ausencia (Coenen y van Luijtelaar, 2003; van Luijtelaar y Coenen, 1986).

En este modelo animal las crisis inician hacia los 75 a 140 días de edad, la cantidad y duración aumenta con el tiempo alcanzando su pico máximo hacia los 6 meses, sin aparentes diferencias entre hembras y machos (Coenen y van Luijtelaar, 1987; Russo *et al.*, 2016). La mayoría de estas descargas se presentan durante el sueño de ondas lentas y la vigilia quieta, con un máximo de presentación durante la fase de oscuridad (van Luijtelaar y Coenen, 1988, 1986).

Este modelo animal responde de manera adecuada a los fármacos antiausencias incluyendo etosuximida, trimetadiona y ácido valproico, pero presenta exacerbación de las crisis epilépticas por fármacos anticonvulsivos como carbamazepina, difenilhidantoína, tiagabina y vigabatrina (Coenen y van Luijtelaar, 2003; Depaulis y van Luijtelaar, 2005). Se ha observado además que diversos neurotransmisores pueden participar en la patogenia de estas crisis, ya que los agonistas para el glutamato, el GABA y los antagonistas para la dopamina y la noradrenalina incrementan el número de descargas, mientras que los antagonistas para el glutamato y el GABA y los agonistas de dopamina presentan el efecto opuesto (Coenen y van Luijtelaar, 2003).

Los avances más recientes muestran que la rata WAG/Rij presenta un foco epiléptico en las capas V y VI de la región perioral en la corteza somatosensorial primaria (Coenen y van Luijtelaar, 2003; Russo *et al.*, 2016). De hecho, se ha descrito que la hiperexcitabilidad de esta región se debe tanto a una disminución en la transmisión GABAérgica como un incremento en la transmisión glutamatérgica y una sobreexpresión de canales de Na^+ como $\text{Na}_v1.1$ y $\text{Na}_v1.6$ (Russo *et al.*, 2016).

Este modelo animal presenta comorbilidades como la depresión crónica de bajo grado o distimia, lo que ha permitido estudiar la posible relación entre este trastorno y las crisis de ausencia (Russo *et al.*, 2016; van Luijtelaar y Coenen, 2009).

c) La rata *taiep*

Durante la década de los años 80's del siglo pasado el Dr. Björn Holmgren y sus colaboradores obtuvieron mediante cruces endogámicos una cepa con una alta frecuencia de bostezo a partir de la rata Sprague-Dawley (SD) en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en Puebla, México. Algunas de estas ratas presentaron de manera espontánea un temblor fino de la cola y de la región proximal de las patas traseras. Los sujetos fueron reproducidos endogámicamente

para fijar esta característica, obteniéndose un mutante de mielina con características excepcionales (Holmgren *et al.*, 1989).

Debido a las características presentadas, esta sublínea de la rata SD se nombró *taiep*, que es el acrónimo de los signos motores que presenta: temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis (Holmgren *et al.*, 1989).

La rata *taiep* se caracteriza por un síndrome neurológico de aparición secuencial: a los 30 días de vida se presenta un temblor intencional en la cola y las extremidades posteriores; a partir de los 120 días de vida se presenta ataxia; a continuación se presentan episodios de inmovilidad, que se caracterizan por la pérdida súbita de la conciencia y de los reflejos de soporte postural (Cortés *et al.*, 2005; Holmgren *et al.*, 1989). A partir de los 6 meses de vida el animal presenta una susceptibilidad a la aparición de crisis epilépticas inducidas por un estímulo auditivo intenso y finalmente se presenta una parálisis progresiva de las extremidades posteriores del animal después del año de edad (Foote y Blakemore, 2005; Holmgren *et al.*, 1989).

Para determinar un patrón de actividad cerebral se realizaron registros de EEG donde se mostró una serie de ráfagas de ondas sincrónicas de 6-7 Hz con una amplitud de 200 a 1,000 μ V (Cortés *et al.*, 2005; Eguibar y Cortés, 2010b). El Dr. Eguibar y la Dra. Cortés en 2010 describieron que este patrón de ondas sincrónicas se trataba de las típicas descargas espiga-onda presentes en las crisis de ausencia en seres humanos y en otros modelos animales de esta patología (Eguibar y Cortés, 2010b; véase Figura 7).

Estas descargas se presentan con una frecuencia de 5 a 8 Hz, una duración media de 5.7 segundos y con un promedio de 68 crisis por hora (Eguibar y Cortés, 2010b). En el registro electroencefalográfico estas descargas se presentan de manera súbita y una vez finalizadas el EEG regresa a su estado basal (Eguibar y Cortés, 2010b). Las crisis de ausencia se presentan de manera inicial hacia los 3 meses de edad en machos, mientras que en las hembras comienzan hasta los 6 meses, alcanzando su pico máximo a los 9 meses (Cortés *et al.* 2021, manuscrito en preparación). La mayoría de estas descargas se presentan durante la fase de oscuridad, en vigilia quieta y se encuentran presentes durante el resto de la vida del animal (Eguibar y Cortés, 2010b).

En cuanto a la conducta animal, es característico que durante una crisis de ausencia, la rata manifiesta una detención súbita de sus movimientos, presentando mirada fija, similar a la breve pérdida de la conciencia que se presenta en las crisis de ausencia, una vez terminadas las descargas el animal vuelve a desplegar la conducta previa a la crisis (Eguibar y Cortés, 2010b; Cortés, *et al.*, 2021, manuscrito en preparación).

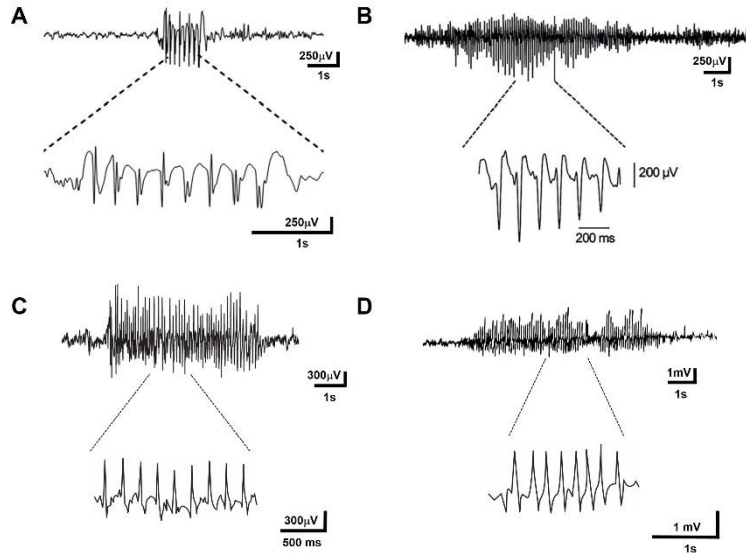


Figura 7. Comparación morfológica de las descargas espiga-onda en humanos, la rata GAERS, la rata WAG/Rij y la rata *taiep*. A. Se muestra un registro electroencefalográfico de un humano durante una crisis de ausencia de aproximadamente tres segundos de duración y una versión amplificada con las líneas punteadas. B. Se muestra un registro de electrocorticograma de una rata GAERS durante una crisis de ausencia y una amplificación de una sección de un segundo. C. Se puede notar un registro de EEG en una rata WAG/Rij con la presencia de descargas espiga-onda, amplificadas en la parte inferior. D. Un registro electroencefalográfico de una rata *taiep* durante una crisis de ausencia, que se amplificó en la parte inferior para observar la morfología similar con respecto al humano y los demás modelos animales. Modificada de D'Amore *et al.*, 2014 & Depaulis y Charpier, 2018.

La rata *taiep* presenta una respuesta farmacológica similar a los humanos con crisis de ausencia, siendo la etosuximida el fármaco más eficaz para reducir la frecuencia y duración de las descargas (Callejas, 2009), así como la administración de ácido valproico y lamotrigina disminuyen también significativamente las crisis de ausencia (Corona, 2012, Cortés *et al.*, 2021, manuscrito en preparación).

Se ha observado además que la administración sistémica de un agonista del receptor GABA_A, el gaboxadol, incrementa la duración y la frecuencia de estas descargas; y por el contrario la administración sistémica de bicuculina, un antagonista del receptor GABA_A, reduce significativamente la cantidad de descargas epilépticas presentadas (Ibarra, 2018).

2.3.3 Influencia hormonal en las crisis de ausencia

A diferencia de los humanos, donde la mayoría crisis de ausencia suelen presentarse principalmente en la infancia y remiten antes de la pubertad, en la mayoría de los modelos animales genéticos las crisis de ausencia persisten a lo largo de su vida (Jarre *et al.*, 2017).

Esto ha permitido estudiar el desarrollo de esta patología en diversas etapas del desarrollo o condiciones funcionales como son, la diferenciación sexual, la madurez, el ciclo estral o periodos hormonales específicos como el embarazo y la lactancia en las hembras (Russo *et al.*, 2016; Tolmacheva *et al.*, 2004).

En la diferenciación sexual se ha mostrado en los modelos de AY-9944 y en el de bicuculina, que las hembras muestran una mayor sensibilidad a la aparición de crisis de ausencia, y estas presentan una duración y frecuencia mayor en comparación con los machos (Matějovská *et al.*, 1998; Persad *et al.*, 2002). En sentido opuesto, los machos de las cepas endogámicas Fischer 344 y Noruegas Marrón (Brown Norway) son los que presentan una mayor frecuencia y duración de las descargas espiga-onda (Jando *et al.*, 1995). De manera similar, las ratas *taiep* machos de 3 meses presentan una mayor cantidad de crisis de ausencia con respecto a las hembras de la misma edad (Cortés *et al.*, 2021, manuscrito en preparación).

En relación a este dimorfismo sexual, la testosterona ha mostrado tener un efecto dual, ya que si se realiza orquiectomía en la etapa neonatal las crisis de ausencia disminuyen considerablemente en la vida adulta, mientras que si este procedimiento se realiza en la etapa adulta las crisis se incrementan de manera significativa (Cortés *et al.*, 2021, sometido a consideración editorial; van Luijtelaar *et al.*, 1996). A su vez, con la administración sistémica de testosterona la cantidad de crisis disminuye durante la primera hora, sin embargo estas incrementan en las siguientes 2 horas (Van Luijtelaar *et al.*, 2009).

Por otra parte, la evidencia actual indica que el 17- β estradiol, el principal estrógeno circulante, no modifica la presentación de las crisis de ausencia, al menos en lo que respecta a las hembras WAG/Rij (Van Luijtelaar *et al.*, 2009; van Luijtelaar *et al.*, 2001). Sin embargo, un hallazgo reciente en las ratas *taiep* indica que esta hormona puede reducir la duración de las descargas espiga-onda en los machos durante las primeras horas tras su administración, presentando un efecto contrario a las 12 horas (Grados, 2019).

La progesterona ha mostrado tener un mayor efecto en este tipo de epilepsia ya que es capaz de incrementar la frecuencia y duración de las crisis de ausencia típicas, así como las crisis atípicas tanto en hembras como en machos (Persad *et al.*, 2004; van Luijtelaar *et al.*, 2003, 2001). Este efecto parece deberse a uno de sus metabolitos llamado alopregnanolona (3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona), un neuroesteroide con acción agonista para el receptor GABA_A, dado que si esta sustancia se administra directamente tanto local como de manera sistémica, se

obtienen efectos similares que al administrar la hormona directamente (Budziszewska *et al.*, 1999; Van Luitelaar *et al.*, 2009).

También se ha demostrado que la progesterona influye en la presentación de las crisis de ausencia durante el ciclo estral, ya que su pico máximo de secreción, en las primeras horas de la noche del proestro, se relaciona con la mayor cantidad de crisis que presentan las ratas en este periodo (Persad *et al.*, 2004; van Luitelaar *et al.*, 2001; véase Figura 8). Si bien, durante este ciclo existe una variación considerable en los niveles plasmáticos de otras hormonas, ninguna de estas se ha podido correlacionar con las variaciones cíclicas que presentan las crisis de ausencia en estos modelos animales (Persad *et al.*, 2004; van Luitelaar *et al.*, 2014, 2001, véase Figura 8).

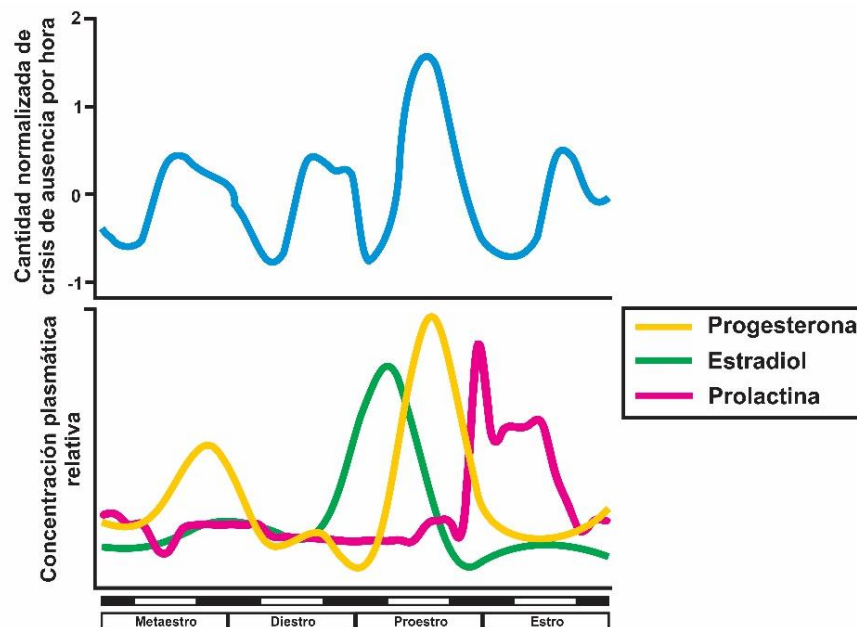


Figura 8. Variación en el número de crisis de ausencia durante un ciclo estral. Se puede observar que el número de crisis de ausencia presenta variaciones en su frecuencia con el ciclo circadiano. Sin embargo, la mayor influencia se presenta con el ciclo estral, donde estas crisis incrementan de manera considerable durante la etapa de proestro. Como se observa en la gráfica inferior, en esta misma etapa se presenta el pico máximo de secreción de progesterona, correlacionándose con la cantidad máxima de crisis de ausencia; los picos máximos de secreción de estradiol y prolactina no se asocian a cambios significativos en la cantidad de crisis. Elaborada a partir de Butcher *et al.*, 1974; Pawluski *et al.*, 2009 & van Luitelaar *et al.*, 2001.

Debido a la información de estos modelos animales, ahora se conoce el comportamiento de las crisis de ausencia durante periodos reproductivos como el embarazo y la lactancia. Estudios llevados a cabo en la rata WAG/Rij han mostrado que el número de crisis que presentan las hembras preñadas disminuye considerablemente durante las primeras 2 semanas de embarazo (Tolmacheva *et al.*, 2004). Sin embargo, durante la tercera y última semana del embarazo estas

crisis se incrementan significativamente con un comportamiento de apariencia exponencial (Kovács *et al.*, 2017; Tolmacheva *et al.*, 2004; véase Figura 9).

De hecho, posterior al parto las crisis disminuyen de manera considerable nuevamente, alcanzando los valores preparto hacia la segunda semana de puerperio (Kovács *et al.*, 2017). A la fecha no se ha establecido una relación directa entre estos cambios y las variaciones plasmáticas de estradiol o progesterona, sin embargo, otras hormonas que también muestran variaciones durante estos periodos, como la oxitocina o la prolactina podrían ser responsables de algunas de estas modificaciones en las crisis de ausencia (Kovács *et al.*, 2017; véase Figura 9).

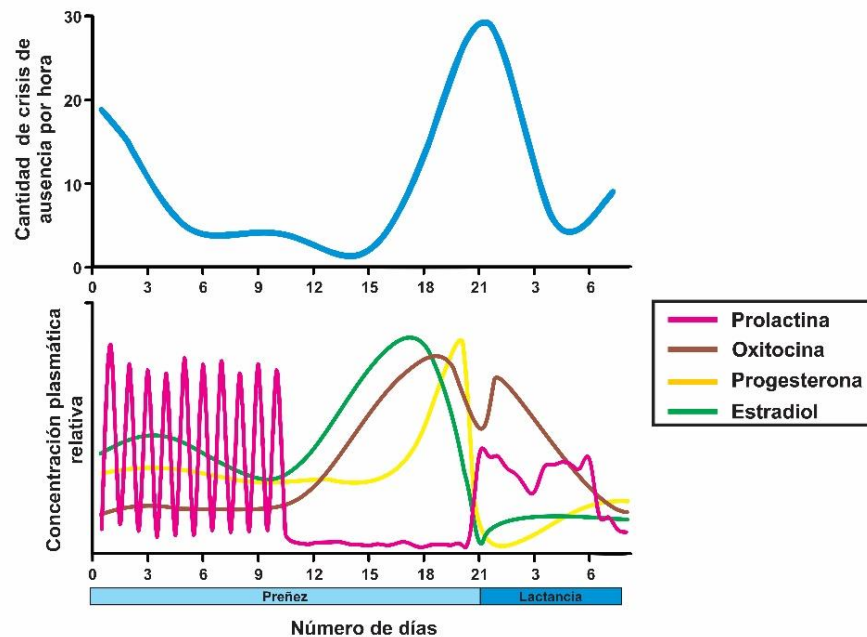


Figura 9. Variación en la cantidad de crisis de ausencia durante el embarazo y la lactancia en la rata. Se puede observar que durante los primeros 15 días de embarazo la cantidad de crisis disminuye considerablemente, sin embargo hacia el final del embarazo las crisis incrementan su frecuencia, alcanzando un máximo en el día 21. En relación a los niveles plasmáticos de diversas hormonas, la progesterona y el estradiol no se relacionan con el comportamiento de las crisis. Sin embargo, la prolactina y la oxitocina presentan picos de secreción hacia el día 21. Elaborada a partir de Butcher *et al.*, 1972; Pawluski *et al.*, 2009 & Tolmacheva *et al.*, 2004.

2.4 Prolactina

La prolactina (PRL) es una hormona producida por la adenohipófisis, de las 6 hormonas provenientes de esta glándula, esta fue la primera en ser identificada y purificada (Horseman y Gregerson, 2016). En 1928, Stricker y Grueter investigaban las propiedades gonadotrópicas de la adenohipófisis mediante la inyección de extractos de esta glándula en conejas seudopreñadas, pero reportaron además que los animales maduraron sus glándulas mamarias hasta la producción y secreción de leche (Meites, 1988; Stricker y Grueter, 1928).

Este hallazgo particular fue replicado y confirmado en otras especies animales como son la rata, la cabra, el cobayo e incluso en palomas, donde el extracto de adenohipófisis permitía la producción de leche de buche (Meites, 1988; Riddle *et al.*, 1933). Precisamente de la hipófisis de este último animal se logró aislar y purificar en 1933 una proteína con la misma capacidad para promover la lactancia, motivo por el cual se le dio el nombre de prolactina (Riddle *et al.*, 1933). Posteriormente se logró aislar esta misma hormona en diversos roedores y primates, pero no fue hasta 1971 que se logró aislar la prolactina humana (PRLh) mediante radioinmunoensayos de extractos de glándulas pituitarias humanas (Lewis *et al.*, 1971).

Actualmente se sabe que la PRL se encuentra presente en una gran diversidad de animales incluyendo peces, anfibios, reptiles y mamíferos (Brooks, 2012; Freeman *et al.*, 2000). Además de la producción de leche, esta hormona posee efectos en el desarrollo y crecimiento del organismo, la reproducción, la osmorregulación, diversas funciones metabólicas y también en la conducta, actuando prácticamente en la totalidad del organismo, motivo por el que se propuso en cierto momento renombrar a esta hormona como “omnipotina” o “versatilina” (Freeman *et al.*, 2000).

2.4.1 Estructura

La prolactina es una hormona peptídica conformada por una cadena simple de 199 aminoácidos en humanos y 197 en ratas y ratones, posee tres enlaces disulfuro entre sus residuos de cisteína en las posiciones Cis4-Cis11, Cis58-Cis174, y Cis191-Cis199; y tiene un peso molecular de 23kDa (Barman *et al.*, 2013; Freeman *et al.*, 2000; véase Figura 10-A). El gen que codifica para su producción se encuentra localizado en el cromosoma 6 para los humanos y en el cromosoma 17 en ratas (Marano y Ben-Jonathan, 2014).

El modelo propuesto actual sugiere que la estructura tridimensional adoptada por la PRL contiene 4 α -hélices dispuestas de manera antiparalela (Freeman *et al.*, 2000; véase Figura 10-B).

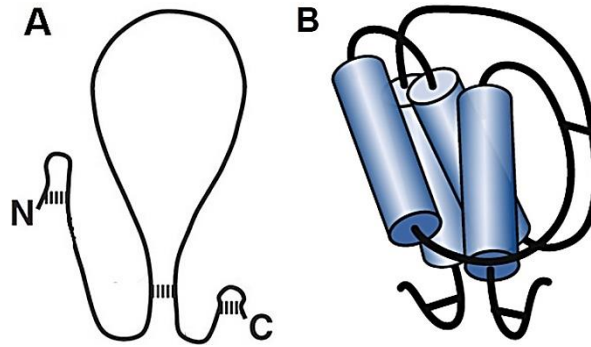


Figura 10. Estructura de la prolactina humana. **A.** Estructura en cadena con su extremo amino-terminal (N) y su extremo carboxi-terminal (C), se muestra con líneas la presencia de sus enlaces disulfuro. **B.** Estructura tridimensional conformada por 4 α -hélices unidas por asas interhélice. Modificada de Gregerson, 2006 & Horseman y Gregerson, 2016.

La estructura de la PRL puede presentar modificaciones postransduccionales, afectando su estabilidad, vida media, su unión al receptor y su actividad biológica (Ben-Jonathan *et al.*, 2008). Al unirse a la inmunoglobulina IgG forma un complejo denominado macroprolactina, con un peso molecular de 150 a 170 kDa y una vida media más larga, aunque posee una mínima actividad biológica, su alto peso molecular la mantiene en el espacio intravascular (Fahie-Wilson *et al.*, 2005). Así mismo, la glicosilación de PRL da lugar a una molécula de 25 kDa que posee una baja afinidad a su receptor y debido a la dificultad para escindir su vida media puede ser dos veces mayor (Ben-Jonathan *et al.*, 2008; Fahie-Wilson *et al.*, 2005).

En 1980 se dieron a conocer también diversas formas escindidas de PRL que poseen un peso molecular de 14 a 17 kDa a las que se les dio el nombre de vasoinhibinas, debido a que se ha demostrado que poseen actividad antiangiogénica en diversos tejidos del organismo (Clapp *et al.*, 2006; Mitra, 1980).

2.4.2 Síntesis y regulación de su secreción

El principal sitio de producción de la PRL corresponde a las células lactótropas de la adenohipófisis, las que representan del 10 al 50% del total de células secretoras en dicha glándula, dependiendo del sexo y la especie animal (Barman *et al.*, 2013; Freeman *et al.*, 2000). Se localizan principalmente en la porción lateroventral y adyacente al lóbulo intermedio de la hipófisis (Barman *et al.*, 2013; Freeman *et al.*, 2000; véase Figura 11). Estas células poseen actividad eléctrica espontánea que genera fluctuaciones en el potencial de membrana en reposo, lo que permite la entrada de Ca^{2+} extracelular (Lingle *et al.*, 1986), facilitando la fusión de las vesículas con la membrana celular y la secreción continua de PRL mediante exocitosis (Grattan y Tissier, 2015; Gregerson, 2006).

Se han reportado en el organismo múltiples sitios capaces de producir PRL, responsables de hasta un 20% de la hormona circulante activa (Bole-Feysot *et al.*,

1998). Dentro de estos se incluyen las células epiteliales de la glándula mamaria, la placenta, la decidua y el miometrio uterino (Grattan y Tissier, 2015; Marano y Ben-Jonathan, 2014). En el SNC se ha reportado presencia de PRL en regiones como el hipotálamo, la amígdala, el tálamo, la corteza cerebral, el hipocampo, el cerebelo y el tallo cerebral (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017). También se ha detectado la presencia de PRL en sitios diversos como los folículos pilosos, queratinocitos, tejido adiposo visceral, cóclea, así como algunas líneas celulares de linfocitos (Frantz, 1978; Freeman *et al.*, 2000; Marano y Ben-Jonathan, 2014).

El hipotálamo ejerce principalmente un efecto inhibitorio en la secreción de esta hormona mediante la acción de la dopamina, una catecolamina que es secretada por las neuronas de la región tuberoinfundibular, las neuronas tuberohipofisiales y las neuronas del núcleo paraventricular y es transportada hacia la adenohipófisis a través del sistema portal hipotálamo-hipofisiario o mediante venas portales conectoras cortas (Grattan y Tissier, 2015; véase Figura 11).

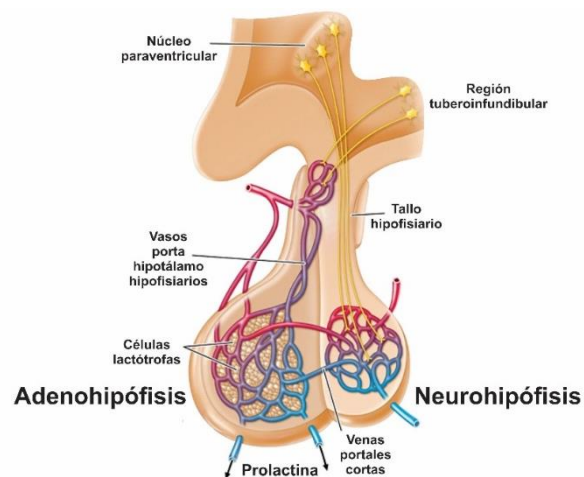


Figura 11. Control hipotalámico de la secreción de la prolactina por la adenohipófisis. Se puede notar que las neuronas de la región tuberoinfundibular liberan dopamina cerca de la eminencia media y llega a las células lactótropas por medio del sistema porta hipotálamo-hipofisiario, mientras que las neuronas del núcleo paraventricular la liberan en la hipófisis posterior y llega a la hipófisis anterior a través de venas portales conectoras cortas. Modificada de Melmed y Jameson, 2018.

Existen además múltiples sustancias y estímulos que pueden favorecer o inhibir la secreción de PRL. Dentro de los factores promotores se encuentran: la hormona liberadora de tirotrópica, la grelina, el péptido intestinal vasoactivo, la angiotensina II, el estradiol, los opioides endógenos, la serotonina, la vasopresina, la sustancia P, la oxitocina, el neuropéptido Y, y la calcitonina, así como también se favorece su producción por el estímulo de succión del pezón, el llanto de las crías y el estrés físico (Grattan y Tissier, 2015). Por el contrario, los factores inhibitorios incluyen: noradrenalina, GABA, histamina, somatostatina, orexina A, óxido nítrico, así como el olor de las feromonas masculinas (Freeman *et al.*, 2000; Grattan y Tissier, 2015).

2.4.3 Transporte en sangre y variaciones en su concentración

La PRL circula en sangre principalmente unida a proteínas, tanto en seres humanos (Kline y Clevenger, 2001), como en ratas (Cohen *et al.*, 1993), posee una vida media de 25 a 50 minutos y es depurada principalmente por el hígado y el riñón (Gardner y Shoback, 2012). En seres humanos, tanto en hombres como mujeres, la concentración plasmática basal normal está por debajo de 15 a 20 ng/mL, mientras que las ratas presentan un dimorfismo sexual en su concentración (Gardner y Shoback, 2012; Grattan y Le Tissier, 2015).

La PRL en las ratas macho no suele presentar valores más allá de los 10 ng/mL, sin embargo, en las ratas hembra su valor varía ampliamente con el ciclo estral, comportándose de manera similar a los machos durante las etapas de metaestro y diestro, mientras que al final de la etapa de proestro y de estro alcanza picos de secreción que pueden llegar a los 200-300 ng/mL (Butcher *et al.*, 1974; Grattan y Le Tissier, 2015; Taya e Igarashi, 1973; véase Figura 12).

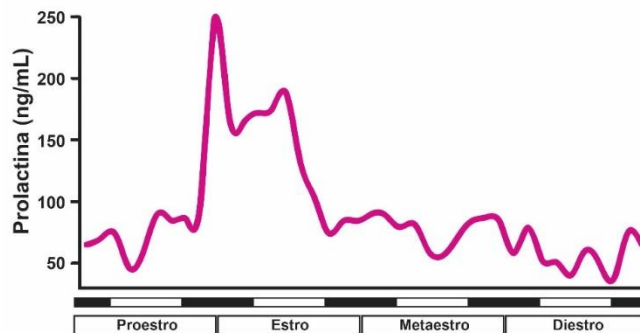


Figura 12. Patrón de secreción de prolactina en ratas hembra durante el ciclo estral. Se puede notar que la prolactina mantiene una concentración plasmática constante en metaestro, diestro y la primera fase del proestro. Sin embargo, se presenta un pico máximo de secreción al final de la etapa de proestro y posteriormente se mantiene una ligera meseta también durante la etapa de estro. Elaborada a partir de Butcher *et al.*, 1974 & Taya e Igarashi, 1973.

La secreción de PRL es episódica, conservando una secreción basal durante la vigilia, mientras que durante el sueño se presenta un incremento progresivo en su secreción, alcanzando un pico máximo en las 2 últimas horas del sueño (Gardner y Shoback, 2012). En humanos, los picos de secreción ocurren en las últimas horas de la noche, mientras que en la rata suceden en la etapa final de la tarde (Bertani *et al.*, 2010; Gardner y Shoback, 2012; Sassin *et al.*, 1972; véase Figura 13).

Durante el embarazo y la lactancia se presenta un incremento muy marcado en la concentración plasmática de esta hormona, alcanzando valores de hasta 300 a 400 ng/mL en mujeres en el último trimestre del embarazo y al momento del parto, disminuyendo gradualmente durante el puerperio, aunque durante los periodos de

lactancia se alcanzan picos que van de los 100 a 200 ng/mL (Battin *et al.*, 1985; Sadovsky *et al.*, 1977; véase Figura 14-A).

En las ratas, la PRL presenta picos de secreción nocturnos de 250 a 300 ng/mL durante los primeros 10 días de su preñez, sin embargo, durante el resto del embarazo su concentración disminuye hasta ser casi imperceptible, elevándose nuevamente en el momento del parto, alcanzando picos de hasta 400 ng/mL en el momento de amamantamiento de las crías (Amenomori *et al.*, 1970; Butcher *et al.*, 1972; véase Figura 14-B).

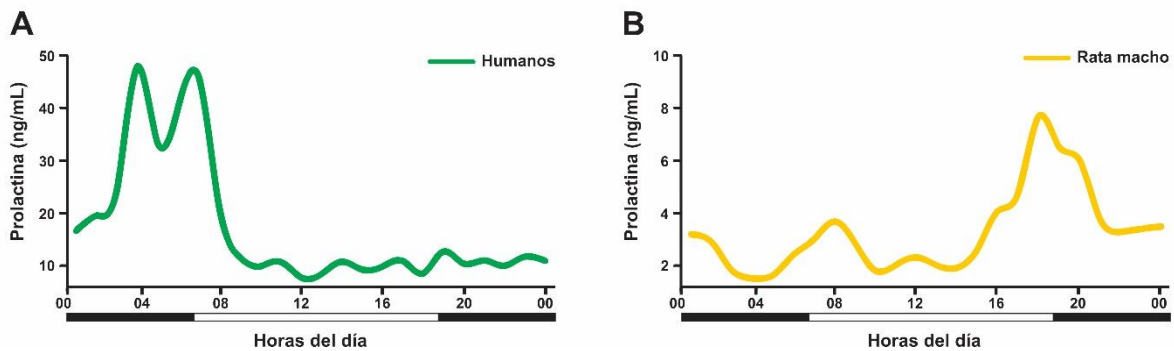


Figura 13. Secreción de prolactina en un periodo de 24 horas. **A.** Se muestra la concentración plasmática de prolactina en humanos en un periodo de 24 horas. La mayor concentración se presenta en la fase de oscuridad con 2 picos notorios a las 4 y 7 horas. **B.** Se muestra la concentración plasmática de prolactina en ratas macho. La mayor secreción se presenta durante la fase de luz, con un pico a las 18 horas. Panel A elaborado a partir de Sassin *et al.*, 1972. Panel B elaborado a partir de Bertani *et al.*, 2010

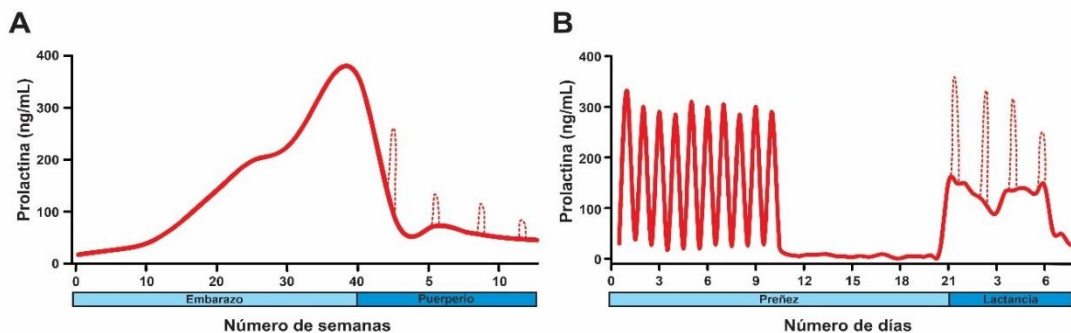


Figura 14. Patrón de secreción de prolactina en el periodo de embarazo y de lactancia. **A.** En mujeres la prolactina incrementa su concentración plasmática durante el embarazo, alcanzando un valor máximo en el momento del parto, disminuyendo progresivamente hasta alcanzar sus valores basales, se observan 4 picos secretorios en el puerperio correspondientes a los periodos de lactancia (líneas punteadas). **B.** En ratas preñadas se presentan elevaciones marcadas en la concentración de prolactina durante los primeros 10 días de embarazo, posteriormente disminuye su concentración en el resto del embarazo y se eleva nuevamente durante la lactancia. Se muestran también 4 picos de secreción que corresponden a la concentración alcanzada en el amamantamiento de las crías (líneas punteadas). Panel A elaborada a partir de Battin *et al.*, 1985 & Sadovsky *et al.*, 1977. Panel B elaborada a partir de Amenomori *et al.*, 1970 & Butcher *et al.*, 1972.

2.4.4 Receptor y señalización intracelular

El receptor para la PRL (PRL-R) es una proteína transmembranal que pertenece a la clase I de la superfamilia de receptores de citocinas, por su homología estructural se han descrito tres formas principales, la forma larga (PRL-RI) y la forma intermedia (PRL-Ri) que son las que median las funciones de la PRL, y la forma corta (PRL-Rc) que actúa como un receptor inhibidor de la misma hormona (Ignacak *et al.*, 2012). La activación de la isoforma corta suprime los efectos de la activación de la isoforma larga e intermedia, además, al unirse con las otras isoformas forma heterodímeros no funcionales (Ignacak *et al.*, 2012).

El receptor de PRL está conformado por tres dominios, uno de unión a ligando extracelular, uno transmembranal y uno citoplasmático para la transducción de señal. El dominio intracelular presenta dos regiones asociadas con la tirosina cinasa Janus 2 (Jak2) que posee la capacidad de fosforilar una gran cantidad de proteínas, modificando su función (Freeman *et al.*, 2000; Ignacak *et al.*, 2012).

Para ejercer sus efectos la PRL requiere de la dimerización de su receptor, una vez que se une, se genera una señal que es enviada al dominio interno generando un cambio conformacional (Freeman *et al.*, 2000). Esto permite a la cinasa Jak2 activarse mediante un proceso de transfosforilación, y fosforilar los residuos de tirosina del receptor, lo que facilita la unión de un tipo especial de proteínas transductoras de señal y activadoras de transcripción (STAT, de sus siglas en inglés: Signal Transducer and Activator of Transcription), principalmente las isoformas STAT5a y STAT5b (Grattan y Tissier, 2015).

Las proteínas STAT son fosforiladas por la Jak2, lo que las separa del receptor y les permite formar un dímero que se transloca al núcleo celular en donde activa un promotor de genes conocido como secuencia activada por interferón- γ (GAS, de sus siglas en inglés) que regula la expresión de diversos genes para la síntesis de proteínas que variarán dependiendo del tejido blanco (Grattan y Tissier, 2015; Ignacak *et al.*, 2012; véase Figura 15).

La PRL es capaz de activar otras vías de señalización incluyendo la cascada de la proteína-cinasa activada por mitógenos (MAPK, de sus siglas en inglés) y la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) con efectos a nivel membranal, intracelular e intranuclear (Freeman *et al.*, 2000; Grattan y Tissier, 2015; véase Figura 15).

Este receptor se expresa en la glándula mamaria, tanto en el epitelio como en el estroma mamario, aunque también se ha demostrado la presencia del PRL-R en diversos tejidos entre los cuales se incluye ovario, corazón, pulmón, hígado, páncreas, riñón, músculo esquelético, glándulas suprarrenales, testículos, próstata, piel, y diversas estructuras del SNC (Frantz, 1978; Freeman *et al.*, 2000).

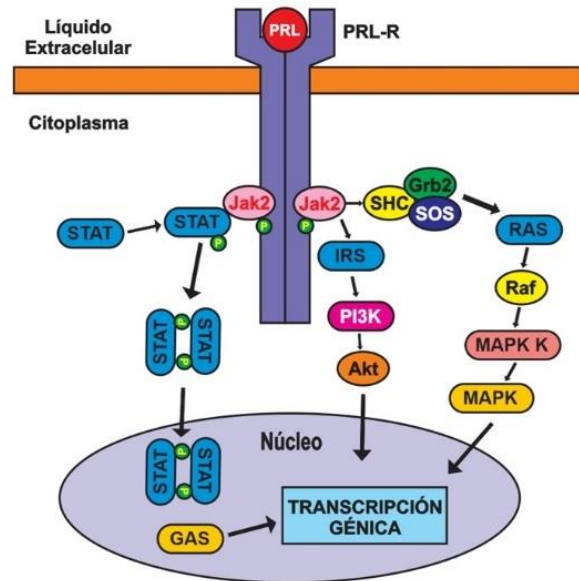


Figura 15. Vías de transducción de señales que median la acción de la prolactina (PRL) al unirse a su receptor (PRL-R) en diferentes tejidos. Del lado izquierdo se puede observar la vía clásica donde la cinasa Janus 2 (Jak2), fosforila a las proteínas transductoras de señal y activadoras de transcripción (STAT) que forman un dímero que se trasloca al núcleo y activa al promotor de genes GAS (secuencia activada por interferón- γ). En el centro se ilustra la cascada de señalización de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K); del lado derecho se observa la cascada de señalización de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK). Todas las vías culminan con la transcripción génica para síntesis de nuevas proteínas. IRS: secuencia del sustrato receptor de insulina, Akt: proteína cinasa B, SHC: proteínas transductoras de señal, Grb2: receptor del factor de crecimiento 2, SOS: factores de intercambio de nucleótidos, RAS: proteína asociada a sarcoma de rata, Raf: quinasa de fibrosarcoma acelerado rápidamente, MAPK K: quinasa de MAPK. Modificada de Grattan y Tissier, 2015.

2.4.5 Funciones

La PRL es la hormona hipofisiaria con la mayor cantidad de funciones descritas, para la década de los 70's del siglo pasado ya se conocían más de 85 funciones y para finales del siglo pasado se había determinado que esta hormona poseía más de 300 funciones biológicas independientes (Bole-Feysot *et al.*, 1998).

Se ha demostrado que esta hormona puede actuar por la vía endocrina clásica, aunque también actúa de forma autocrina y paracrina como un factor de crecimiento, un inmunomodulador e incluso un neurotransmisor (Bole-Feysot *et al.*, 1998; Cabrera-Reyes *et al.*, 2017).

Para su estudio, los efectos de la PRL a nivel sistémico pueden dividirse en cuatro categorías específicas: regulación hidroelectrolítica, crecimiento y metabolismo, inmunomodulación y reproducción; mientras que sus efectos en el sistema nervioso central requieren una consideración especial.

- **Regulación hidroelectrolítica.**

La PRL tiende a generar un balance positivo en los líquidos corporales, ya que favorece de manera inicial la absorción de agua y electrolitos como Ca^{2+} , Na^+ , K^+ y Cl^- en los enterocitos del duodeno, yeyuno e íleon así como en la porción inicial del intestino grueso (Bole-Feysot *et al.*, 1998; Mainoya *et al.*, 1974). Además, en el riñón induce hipertrofia tanto de los túbulos como del glomérulo de la nefrona y a su vez, estimula la actividad de la bomba Na^+/K^+ ATPasa, favoreciendo la reabsorción de Na^+ que conlleva a la reabsorción de agua (Bole-Feysot *et al.*, 1998; Richardson, 1973).

- **Crecimiento y metabolismo.**

Una de las acciones más descritas de la PRL es la proliferación celular, esta hormona estimula el crecimiento de los melanocitos y queratinocitos en la piel, así como de los folículos pilosos, donde es responsable, por ejemplo, de los cambios estacionales en el crecimiento del pelaje en animales como ciervos y cabras (Bernard *et al.*, 2019; Curlewis *et al.*, 1988). Otras líneas celulares donde la PRL ejerce la función de hipertrofia e hiperplasia son los miocitos vasculares, hepatocitos, enterocitos, células β pancreáticas, astrocitos, linfocitos y las células del estroma mamario (Bole-Feysot *et al.*, 1998).

Esta hormona estimula el metabolismo energético al incrementar la actividad de la lipasa de lipoproteínas en el tejido adiposo y el hígado, donde además favorece la producción y secreción del líquido biliar (Bole-Feysot *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 1992). En lo que respecta al metabolismo de glucosa, estimula la función de la enzima glucógeno fosforilasa en el hepatocito, de la enzima glucocinasa y del transportador GLUT-2 en el tejido pancreático, favoreciendo la secreción de insulina (Bernard *et al.*, 2019; Weinhaus *et al.*, 1996). Además, se ha observado que participa en la resorción ósea durante la lactancia para mantener las concentraciones séricas adecuadas de Ca^{2+} para la producción de leche (Bernard *et al.*, 2019).

- **Inmunomodulación.**

En la inmunidad celular, se ha descrito que la PRL favorece la proliferación de linfocitos T y B así como incrementa la producción de IgG e IgM, $\text{IFN-}\gamma$ y la expresión de receptores para citocinas (Freeman *et al.*, 2000; Savino, 2016). A su vez, esta hormona también induce la activación de macrófagos y células NK (Natural Killer) incrementando además su secreción del anión superóxido (O_2^-) y del óxido nítrico (NO; Bole-Feysot *et al.*, 1998). Finalmente, en los tejidos linfáticos como el timo y el bazo, la PRL estimula su hipertrofia y su actividad inmunoestimuladora, mientras que en la glándula mamaria favorece además la secreción de IgA por las células plasmáticas (Savino, 2016).

- **Reproducción.**

El principal efecto de la prolactina radica en las glándulas mamarias donde ejerce sus acciones en dos etapas distintas de la vida: la pubertad y el embarazo (Bachelot y Binart, 2007; Bernard *et al.*, 2019). Durante la pubertad la PRL estimula el desarrollo de las ramas ductales y las yemas alveolares de la glándula mamaria (Grattan y Le Tissier, 2015). Por otra parte, en la etapa de embarazo favorece la conversión de las yemas alveolares en lóbulos alveolares incrementando la captación de aminoácidos y glucosa por las células del estroma mamario para la producción de los constituyentes de la leche (Bachelot y Binart, 2007; Molina *et al.*, 2013).

En el ovario la PRL favorece el desarrollo y la maduración de los ovocitos, mientras que una vez fecundado, promueve la implantación del blastocisto en el útero y el mantenimiento del cuerpo lúteo durante el embarazo al estimular la producción de progesterona (Bole-Feysot *et al.*, 1998; Grattan y Le Tissier, 2015).

En los machos, la PRL incrementa la producción de andrógenos en las células de Leydig, y la velocidad de la espermatogénesis en las células de Sertoli (Bole-Feysot *et al.*, 1998). En los espermatozoides reduce el periodo de capacitación, incrementa su metabolismo energético y estimula su motilidad en el líquido espermático (Fukuda *et al.*, 1989). Así mismo, la PRL incrementa la actividad metabólica y la funcionalidad de la próstata, el epidídimo y las vesículas seminales, favoreciendo la producción de líquido espermático con altas concentraciones de lípidos y ácido cítrico (Bole-Feysot *et al.*, 1998; Costello y Franklin, 1994).

2.4.6 Prolactina en el sistema nervioso central.

En 1968 surgió la primera evidencia de que la PRL podría tener efectos en el SNC, cuando Clemens y Meites demostraron que la hormona era capaz de inhibir su propia secreción en la hipófisis, si se administraba directamente en el hipotálamo (Clemens y Meites, 1968). Sin embargo, para que ocurriese este mecanismo de retroalimentación negativa en condiciones fisiológicas, la PRL debería viajar por el torrente sanguíneo, atravesar la barrera hematoencefálica, alcanzar el líquido cefalorraquídeo (LCR) y entonces acceder al hipotálamo (Clemens y Sawyer, 1974). En años posteriores se pudo mostrar que efectivamente, esta hormona se encuentra presente en concentraciones considerables en el LCR en diversos animales incluyendo el ser humano, aunque la manera en que podría acceder al SNC no se pudo dilucidar completamente (Clemens y Sawyer, 1974; Login y MacLeod, 1977).

A la fecha no se ha podido esclarecer el mecanismo preciso por el cual la PRL es capaz de ingresar al SNC (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017). La principal teoría propone que esta hormona podría atravesar los plexos coroideos en un tipo de transporte mediado por su propio receptor, debido a su abundante expresión en esa estructura

vascular tanto en el ser humano como en otros mamíferos (Di Carlo *et al.*, 1992; Lai *et al.*, 1992; Walsh *et al.*, 1987). Otras teorías apuntan hacia un flujo retrógrado desde la adenohipófisis, la entrada a través de un receptor no identificado o su producción en estructuras neuronales y su circulación a través de las venas cerebrales (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017; Marano y Ben-Jonathan, 2014).

En diversos animales, especialmente roedores la PRL puede sintetizarse en otras áreas del SNC como son los núcleos supraóptico, paraventricular, ventromedial y dorsomedial del hipotálamo, el tálamo, el hipocampo, la amígdala, el bulbo olfatorio e incluso algunas áreas de la corteza prefrontal y parietal, el cerebelo y el tallo cerebral (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017; Paut-Pagano *et al.*, 1993; véase Figura 16). Cabe aclarar que hasta este día sólo existe un estudio que ha mostrado de manera experimental la producción de PRLh por células endoteliales cerebrales humanas (Yang *et al.*, 2013), mientras que la producción de esta hormona en otras áreas del SNC del ser humano aún se desconoce.

El receptor para PRL se encuentra presente en el SNC tanto de seres humanos como de otros animales, presentando su mayor expresión en las células epiteliales de los plexos coroideos (Bakowska y Morrell, 1997; Di Carlo *et al.*, 1992). En el ser humano, este receptor se encuentra presente también en hipocampo, hipotálamo, tálamo, hipófisis, núcleo caudado, globo pálido, cerebelo y corteza cerebral (Di Carlo *et al.*, 1992; Lai *et al.*, 1992). En roedores, diversos estudios han permitido identificar de manera más específica la expresión del PRL-R en los núcleos supraóptico, anteroventral, anterodorsal, ventromedial, arqueado y paraventricular del hipotálamo, los núcleos anterodorsal, intermediodorsal y paraventricular del tálamo, el núcleo medial de la amígdala, el giro dentado y las regiones CA₁, CA₂ y CA₃ (del latín *cornu Ammonis*) del hipocampo, el cuerpo calloso y en las capas V y VI de la corteza cerebral (Bakowska y Morrell, 2003, 1997; véase Figura 16).

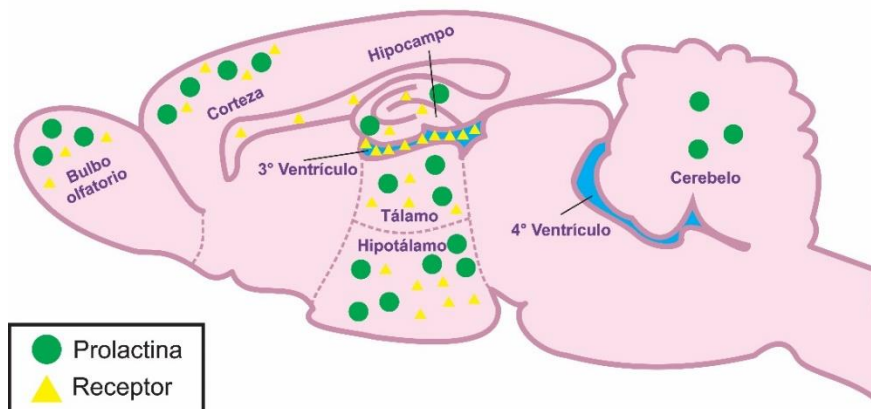


Figura 16. Expresión de prolactina y su receptor en el encéfalo de la ratona. Se puede observar que la prolactina se produce en diversas áreas del SNC de la ratona, especialmente en hipotálamo, mientras que su receptor también tiene una expresión diseminada, con su mayor cantidad en los plexos coroideos del tercer ventrículo cerebral. Modificada de Cabrera-Reyes *et al.*, 2017.

Con el conocimiento de que la PRL se sintetiza en diversas áreas del SNC y que además su receptor se distribuye alrededor del encéfalo es evidente que esta hormona es capaz de ejercer acciones a nivel central (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017; Torner, 2016). Debido a su papel fundamental durante el periodo de lactancia, las primeras funciones descritas de esta hormona han sido aquellas relacionadas con la conducta materna y el mantenimiento de las condiciones fisiológicas adecuadas que permitan la correcta alimentación de las crías (Grattan, 2002; Torner y Neumann, 2002).

Durante el embarazo y la lactancia la PRL favorece el inicio y mantenimiento de la conducta materna al estimular el área preóptica media, la principal estructura relacionada con esta conducta (Numan, 1994; Pi y Grattan, 1999). A su vez, esta hormona estimula los núcleos ventromedial, supraóptico y paraventricular del hipotálamo lo que favorece el apetito y aumenta la liberación de oxitocina y vasopresina. Estas acciones llevan a un incremento en la ingesta de alimento y mayor reabsorción de agua para una producción adecuada de leche y su correcta expulsión a través del reflejo de succión o de Ferguson (Augustine *et al.*, 2017; Moore y Brasel, 1984).

Ahora se sabe que las acciones de la PRL durante la lactancia pueden replicarse al aplicar esta hormona de manera exógena, por ejemplo, es posible inducir la conducta materna en ratas hembras nulíparas tras la administración central de PRL (Bridges y Ronsheim, 1990; Grattan, 2002). Así mismo, los resultados de la hiperfagia y la secreción de oxitocina y vasopresina se han reproducido al perfundir esta hormona durante 5 a 7 días en el LCR (Donner y Neumann, 2009; Noel y Woodside, 1993; Sauvé y Woodside, 1996).

A partir de diversos cambios morfológicos reportados en el encéfalo de ratas hembras preñadas o en lactancia ahora se sabe de los múltiples efectos de la PRL a nivel central (Torner, 2016). Por ejemplo, esta hormona ha mostrado ser capaz de incrementar los procesos de neurogénesis en la zona subventricular tanto de hembras preñadas, como de hembras nulíparas e incluso de machos (Shingo *et al.*, 2003). Este proceso se ve facilitado también en el hipocampo, donde la administración de PRL logra incrementar la cantidad de neuroesferas, las células precursoras neuronales, tanto *in vitro* como *in vivo* (Torner *et al.*, 2009; Walker *et al.*, 2012).

Se ha demostrado que la PRL no sólo facilita los procesos de neurogénesis, sino que además ejerce un efecto protector sobre estas células en situaciones en que el estrés crónico pudiese generarles lesión (Torner *et al.*, 2009). Si bien se ha descrito que esta acción se debe a un efecto directo sobre las células, se sabe que esta hormona además disminuye la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal al

inhibir la producción de la hormona liberadora de corticotropina en el hipotálamo (Gustafson *et al.*, 2017b, 2017a).

Esta neuroprotección sobre las neuronas hipocámpales se presenta también ante otros mecanismos como la excitotoxicidad inducida por glutamato (Cabrera *et al.*, 2009; Vanoye-Carlo *et al.*, 2008). En un modelo animal de epilepsia inducida por ácido kaínico (AK), un agonista del glutamato, se ha mostrado que el tratamiento previo con PRL disminuye la magnitud de la neurodegeneración que esta sustancia provoca y a su vez atenúa la intensidad de las convulsiones presentadas (Morales, 2011; Tejadilla *et al.*, 2010).

Recientemente se ha observado que la PRL actuaría también como una sustancia de neurorescate, dado que la pérdida neuronal inducida por AK se ve atenuada cuando la PRL se administra posterior a la lesión con AK (Reyes-Mendoza y Morales, 2016).

2.5 Participación de la prolactina en condiciones patológicas

La prolactina es conocida especialmente por su función estimuladora en las glándulas mamarias, donde favorece la proliferación y diferenciación celular y la síntesis de leche materna (Horseman y Gregerson, 2016). Sin embargo, la participación de esta hormona en diversos procesos fisiológicos a nivel periférico y central muestran que se trata de un factor pleiotrópico necesario para el adecuado funcionamiento de nuestro organismo (Bernard *et al.*, 2019). Debido a este papel fundamental de la PRL en la modulación de múltiples procesos orgánicos, el desbalance de los mecanismos que regulan su secreción se ha asociado con la aparición de ciertas condiciones mórbidas y patológicas (Chang y Copperman, 2019).

La deficiencia de PRL es una condición patológica rara y poco estudiada, las principales causas de este padecimiento se asocian con la disminución de la secreción de las células lactótropas en la adenohipófisis, ya sea por una inhibición directa debida al uso de fármacos agonistas de dopamina o pérdida de estas células por eventos traumáticos, isquémicos o de origen autoinmune (Bernard *et al.*, 2019; véase tabla 2). Los procesos patológicos que lesionan a la adenohipófisis suelen generar la pérdida no selectiva de este tejido, por lo que la sintomatología no es específica de una deficiencia hormonal aislada (Diri *et al.*, 2016). En la mayoría de los casos en que se ha detectado una concentración sérica disminuida de esta hormona de manera aislada la sintomatología asociada ha sido la pérdida de la capacidad de lactancia en el periodo postparto, así como alteraciones en el desarrollo de los folículos ováricos, sin cambios evidentes en el ciclo menstrual (Kauppila *et al.*, 1987; Powe *et al.*, 2010).

La elevación en la concentración plasmática de PRL, o hiperprolactinemia, se presenta de manera fisiológica durante el embarazo y la lactancia, para llevar a cabo las funciones reproductivas asociadas al embarazo, parto y puerperio, así como durante la lactancia (Grattan y Le Tissier, 2015; véase tabla 2). La hiperprolactinemia puede ocurrir también como respuesta al estímulo continuo del pezón, tras el uso de fármacos antagonistas del receptor a dopamina y en pacientes con insuficiencia renal crónica, debido a una disminución en su aclaramiento (Chang y Copperman, 2019). Diversas circunstancias patológicas generan un incremento en la secreción de esta hormona, entre las cuales el prolactinoma representa más del 50% de los casos; otras causas incluyen la macroprolactinemia, adenomas pituitarios no funcionales, hipotiroidismo primario, síndrome paraneoplásico, trastornos de origen genético y la hiperprolactinemia de origen desconocido (Bernard *et al.*, 2019; Vilar *et al.*, 2008).

Tabla 2. Etiología de la hipoprolactinemia e hiperprolactinemia

| Hipoprolactinemia | Hiperprolactinemia |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ◆ Fármacos agonistas de dopamina ◆ Lesión de la glándula pituitaria <ul style="list-style-type: none"> ▪ Hipofisitis ▪ Adenoma hipofisiario ▪ Síndrome de Sheehan (necrosis hipofisiaria isquémica) ◆ Deficiencia idiopática | <ul style="list-style-type: none"> ◆ Fisiológica <ul style="list-style-type: none"> ◆ Embarazo y lactancia ◆ Secundaria <ul style="list-style-type: none"> ▪ Estimulación del pezón ▪ Fármacos antagonistas de dopamina ▪ Insuficiencia renal crónica ◆ Patológica <ul style="list-style-type: none"> ▪ Prolactinoma ▪ Macroprolactinemia ▪ Adenoma hipofisiario ▪ Síndrome paraneoplásico ◆ Origen genético ◆ Origen desconocido |

Elaborada a partir de Bernard *et al.*, 2019.

El término macroprolactinemia hace referencia a la hiperprolactinemia en la que más del 60% de la prolactina sérica es identificada como macroprolactina, se desconoce la causa específica de este trastorno, se presenta con mayor frecuencia en mujeres en edad fértil y el valor sérico promedio es mayor a 100 ng/mL (Kalsi *et al.*, 2019). Los síntomas asociados a la macroprolactinemia más frecuentes son galactorrea, irregularidad en el ciclo menstrual, disminución de la libido e infertilidad (Chang y Copperman, 2019; Kalsi *et al.*, 2019). El tratamiento con fármacos agonistas al receptor de dopamina reduce significativamente los niveles séricos de PRL y disminuye la severidad de la sintomatología asociada (Kalsi *et al.*, 2019).

La manifestación clínica más común de la hiperprolactinemia es la infertilidad secundaria a hipogonadismo hipogonadotrópico, debido a que la PRL inhibe la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a nivel hipotalámico (Saleem *et al.*, 2018). Esta inhibición mediada por PRL es indirecta, ya que se ha mostrado que esta hormona inhibe la actividad de las neuronas del área periventricular rostral del tercer ventrículo encargadas de sintetizar kisspeptina, un péptido recientemente descrito como el mayor estimulador conocido sobre las neuronas secretoras de GnRH (Chang y Copperman, 2019; Grattan y Szawka, 2019). En un estudio llevado a cabo por Millar y cols. (2017) se reportó que la infusión de kisspeptina puede restablecer la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal en mujeres con infertilidad secundaria a hiperprolactinemia crónica, lo que podría significar una alternativa terapéutica efectiva en estas pacientes.

La presencia de hiperprolactinemia como comorbilidad asociada a diversas condiciones patológicas ha sido estudiada ampliamente, sin mostrar una relación directa entre esta condición y el riesgo de presentar diabetes, cáncer en general o enfermedades de origen cardiovascular (Macotela *et al.*, 2020; Soto-Pedre *et al.*, 2017; Therkelsen *et al.*, 2016). De hecho, un estudio de Wang y cols. (2013) mostró

que los niveles séricos más altos de PRL se asociaron a una menor prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). En concordancia, otras investigaciones han mostrado que los pacientes con DMT2 presentan niveles plasmáticos de PRL significativamente menores que los pacientes sin esta enfermedad (Balbach *et al.*, 2013; Manshaei *et al.*, 2019). Este efecto podría deberse a que la PRL incrementa la proliferación de las células β pancreáticas, favorece la síntesis de insulina e incrementa la función del transportador de glucosa tipo 2 en el tejido pancreático, favoreciendo la secreción y sensibilidad a la insulina (Labriola *et al.*, 2007; Weinhaus *et al.*, 1996).

Respecto al cáncer de mama, algunos estudios han asociado la hiperprolactinemia con un riesgo incrementado de presentar esta patología (Bernichtein *et al.*, 2010; Tworoger y Hankinson, 2008), mientras que en otros, no se ha observado una relación directa entre hiperprolactinemia y este tipo de cáncer (Dekkers *et al.*, 2015). La hiperprolactinemia en hombres no se asocia a un riesgo incrementado de hiperplasia prostática benigna (Colao *et al.*, 2004), ni de cáncer de próstata (Stattin *et al.*, 2001). En el adenocarcinoma pancreático ductal, la expresión del receptor de PRL se asocia a un incremento de fibrosis y progresión del epitelio neoplásico (Tandon *et al.*, 2019). Un estudio realizado en pacientes con carcinoma colorrectal e hiperprolactinemia mostró que los pacientes con tumores en los cuales el PRL-R no estaba expresado presentaban un pronóstico menos favorable, con respecto a aquellos en los que el PRL-R estaba presente (Bhatavdekar *et al.*, 1994). Estos estudios muestran que la hiperprolactinemia podría ser perjudicial para pacientes con ciertos tipos de tumoraciones patológicas, mientras que, de manera opuesta, la PRL podría asociarse a un efecto benéfico en otras variantes del cáncer.

El efecto benéfico de la hiperprolactinemia se ha observado en otras patologías, como en la enfermedad de injerto contra huésped en pacientes sometidos a aloinjertos de células madre hematopoyéticas, ya que la elevación sérica de PRL se asoció a un incremento de citocinas proinflamatorias como son IFN- γ y TNF- α y a una mayor supervivencia a largo plazo (Parra *et al.*, 2012). En un estudio prospectivo llevado a cabo en mujeres con esclerosis múltiple durante el periodo de lactancia se mostró que el mantener la lactancia materna durante al menos 2 meses se relacionaba con una reducción significativa del riesgo de recaídas de la enfermedad (Langer-Gould *et al.*, 2009). Se ha mostrado además que los pacientes con esta enfermedad autoinmune en su variante remitente-recurrente presentan un incremento en la concentración sérica de PRL durante los periodos recurrentes (Moshirzadeh *et al.*, 2012; Türkoğlu *et al.*, 2016). La hiperprolactinemia en esta enfermedad se presenta además con un incremento en la concentración de esta hormona en el líquido cefalorraquídeo, especialmente en mujeres, lo que se ha relacionado al pronóstico más favorable en estas pacientes (Markianos *et al.*, 2010).

La PRL sérica se incrementa en otras enfermedades de origen neurológico como la enfermedad de Parkinson, la hipoxia cerebral, el traumatismo craneoencefálico, el evento vascular cerebral (EVC), tanto del tipo isquémico como del tipo hemorrágico,

así como en epilepsia (Chen *et al.*, 2005; Huttner *et al.*, 2013; Nitkowska *et al.*, 2015; Olivecrona *et al.*, 2013). La significancia de la hiperprolactinemia en la historia natural de estas enfermedades, sin embargo, no ha sido ampliamente estudiada más que en algunos modelos animales (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017). En el caso particular del EVC, se ha reportado que la PRL actuaría sobre los astrocitos y las células de la microglia presentes en la zona de penumbra isquémica para delimitar el daño mediante la producción de citocinas proinflamatorias y la formación de una cicatriz glial (DeVito *et al.*, 1995; Mödersheim *et al.*, 2007).

En el área de estudio de la epilepsia, durante más de cuarenta años se ha sabido que la PRL incrementa su concentración sérica posterior a una crisis epiléptica tónico-clónica generalizada y en otros tipos de epilepsia tanto de origen generalizado como de origen focal (Chen *et al.*, 2005; Trimble, 1978). A la fecha, la hiperprolactinemia transitoria secundaria a una crisis epiléptica se utiliza únicamente como un biomarcador para el diagnóstico diferencial entre epilepsia y otras patologías de presentación clínica similar que no presentan una elevación sustancial de esta hormona (Sueri *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2021).

En modelos animales de epilepsia se ha mostrado que la PRL es capaz de disminuir la intensidad de las crisis epilépticas, así como de disminuir las lesiones inducidas por la excitotoxicidad en el hipocampo (Doretto *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 2014; Reyes-Mendoza y Morales, 2016). Por estos motivos, una hipótesis actual indica que la liberación de PRL durante una crisis epiléptica es un mecanismo antiepiléptico endógeno que contribuye al cese de la crisis y además delimita el daño inducido por esta patología cerebral (Ortiz-Pérez *et al.*, 2019).

La elevación sérica de PRL que se presenta en diversas condiciones patológicas podría ser, en realidad, un mecanismo para proteger y mantener el bienestar en el organismo, por lo tanto, es probable que en el futuro la hiperprolactinemia en estas situaciones sea vista como un factor homeostático y no como una comorbilidad asociada que requiere tratamiento (Macotela *et al.*, 2020).

3. ANTECEDENTES

3.1 La rata *taiep*, un modelo de tubulinopatía

La rata *taiep* es un mutante de mielina que se obtuvo como una mutación espontánea en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor en el Instituto de Fisiología en 1989 (Holmgren *et al.*, 1989). El animal presenta una leucodistrofia caracterizada por una hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva en el sistema nervioso central debido a la acumulación de microtúbulos en los oligodendrocitos (Eguibar *et al.*, 2014).

El nombre de esta rata es el acrónimo de los principales signos neurológicos que la caracterizan, los cuales se presentan de manera progresiva: temblor a los 30 días, ataxia entre los 90 y 120 días, episodios de inmovilidad a los 150 y 180 días, epilepsia a los 180 a 240 días y parálisis hacia los 12 meses de vida (Eguibar *et al.*, 2014; Holmgren *et al.*, 1989).

El temblor es la manifestación inicial, afecta principalmente la cola y la región proximal de las extremidades posteriores, con una frecuencia inicial de 13.3 ± 1.2 Hz, a medida que el animal se desarrolla, la intensidad se incrementa y disminuye su frecuencia, alcanzando una frecuencia de 5.7 ± 0.6 Hz (Holmgren *et al.*, 1989).

Hacia los 4 meses de vida presenta ataxia locomotora y para poder lograr una base de sustentación adecuada las ratas tienden a extender y separar sus extremidades posteriores (Anch *et al.*, 2000; Powell *et al.*, 1999). Estudios recientes han mostrado además que la velocidad de la marcha disminuye con la edad de las ratas *taiep* (Eguibar *et al.*, 2020, aceptado para su publicación; Ahumada Juárez, 2020).

Los episodios de inmovilidad de la rata *taiep* inician de manera espontánea a partir de los 5 meses de edad con una frecuencia media de 3 episodios cada 2 horas y una duración de 53.07 ± 1.9 s (Cortés, 2012; Cortés *et al.*, 2005). Sus manifestaciones conductuales consisten en pérdida repentina de los reflejos antigravitatorios, inmovilidad, bradipnea y contractura de la musculatura facial y movimientos tipo clono de las extremidades anteriores (Cortés *et al.*, 2005).

Inicialmente se describió que este animal presentaba susceptibilidad a presentar crisis audiogénicas, apareciendo sólo en el 6.25% de las ratas de 3 a 6 meses y en 62.5% de aquellas con 12 a 13 meses de edad (Holmgren *et al.*, 1989). Además, como se ha descrito, la rata *taiep* presenta un patrón de descarga en el EEG y una conducta que es igual a las crisis de ausencia en humanos y en otros modelos animales (Eguibar y Cortés, 2010b).

La parálisis que presenta la rata *taiep* es progresiva, presentándose en algunos animales hacia los 12 meses, afectando a las extremidades posteriores,

presentando dificultad para desplazarse y levantarse, sin embargo, este animal alcanza más de los 18 meses de vida (Cortés *et al.*, 2005; Holmgren *et al.*, 1989).

Características morfológicas

A nivel ultraestructural, el principal defecto se presenta en los oligodendrocitos (Couve *et al.*, 1997; Duncan *et al.*, 1992). Desde el día postnatal 1, existe una baja cantidad de oligodendrocitos en la columna ventral de la médula espinal que presentan acumulación de microtúbulos (MT) asociados a elementos de transición del retículo endoplásmico (RE; Lunn *et al.*, 1997). Hacia el día postnatal 10 este defecto se encuentra presente en otras regiones del SNC como son el tracto corticospinal y el nervio óptico (Couve *et al.*, 1997; véase Figura 17).



Figura 17. Micrografía electrónica del interior de un oligodendrocito del nervio óptico de una rata *taiep* de 12 días. Se puede observar un cúmulo de microtúbulos, (señalados con flechas) asociados a elementos de transición entre el retículo endoplásmico (ER) en dirección hacia la porción Cis del aparato de Golgi (GA), así como también se encuentra una abundante cantidad de microtúbulos contenidos en el citoplasma. Modificada de Couve *et al.*, 1997.

A medida que la rata *taiep* continúa su desarrollo, los MT siguen acumulándose y comienzan a extenderse hacia los procesos celulares que se encuentran en contacto con los axones neuronales, dando lugar, incluso, a la formación de múltiples microprocesos llenos únicamente de MT (Krsulovic *et al.*, 1999; Song *et al.*, 1999; véase Figura 18).

Se ha propuesto que estos cúmulos de MT compactados representan el primer obstáculo para el tráfico intracelular adecuado de proteínas componentes de la mielina desde el soma hacia los procesos de los oligodendrocitos (Couve *et al.*, 1997; Song *et al.*, 2003).

Utilizando oligodendrocitos en cultivo provenientes de la rata *taiep*, Song y cols. (2003) mostraron que los gránulos del ARNm que codifican para las proteínas asociadas a la mielina al movilizarse hacia la periferia presentan una mayor

frecuencia de pausas y de movimiento retrógrado respecto a los grupos control. Este podría ser el segundo factor que contribuye al tráfico inadecuado hacia los procesos distales de las proteínas necesarias para la síntesis de la mielina y su acumulación en los procesos proximales y la región perinuclear de los oligodendrocitos (Song *et al.*, 2003; véase Figura 19).

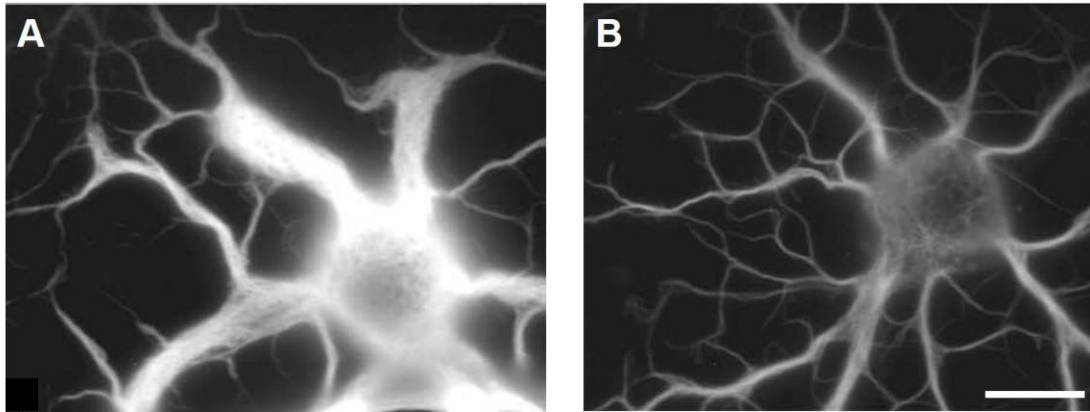


Figura 18. Incremento en la densidad microtubular en el oligodendrocito de la rata *taiep*. **A.** Se muestra un microtúbulo de una rata *taiep* que presenta una gran intensidad fluorescente de microtúbulos en la región perinuclear y en sus procesos distales. **B.** Se muestra un oligodendrocito control que presenta una menor intensidad inmunofluorescente de microtúbulos. Inmunotinción con inmunoglobulina G anti- β -tubulina. Barra de escala: 25 μ m. Modificada de Song *et al.*, 2003.

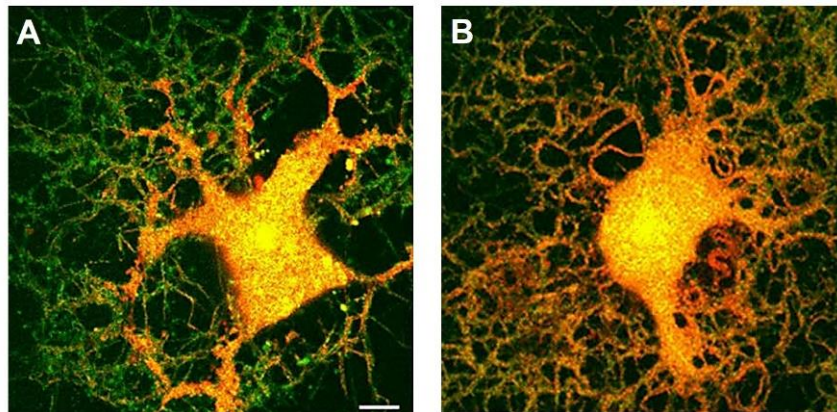


Figura 19. Tráfico de ARNm de la proteína básica de mielina en un oligodendrocito en cultivo, proveniente de la rata *taiep*. **A.** Se puede notar en un oligodendrocito de la rata *taiep* que los gránulos de ARNm de la proteína básica de mielina (color naranja) se acumulan en el interior del soma y en los procesos más proximales. **B.** Se observa que los gránulos de ARNm de la proteína básica de mielina se transportan de manera normal hasta los procesos más distales del oligodendrocito de una rata control. Se utilizó dextrano conjugado con isotiocianato de fluoresceína (verde) como marcador de volumen citoplasmático, barra de escala = 20 μ m. Modificada de Song *et al.*, 2003.

Los MT presentan cambios en su polaridad, ya que cerca de la mitad están dispuestos en contra de las manecillas del reloj (Song *et al.*, 1999). Esta anomalía produce el movimiento de organelos y proteínas en sentido retrógrado hacia el soma

del oligodendrocito, siendo el tercer factor que contribuye a la acumulación de las proteínas de la mielina en el área perinuclear (Song *et al.*, 2003, 1999).

Debido a esta situación el proceso inicial de formación de la mielina se presenta de manera aberrante, lo que conlleva a una compactación inadecuada de las vainas de mielina, un colapso progresivo del collar periaxonal de la mielina y una disminución en la cantidad axones mielinizados desde edades tempranas (Krsulovic *et al.*, 1999). Por tanto, este modelo animal presenta una hipomielinización inicial en el SNC (Krsulovic *et al.*, 1999; Lunn *et al.*, 1997).

Si bien se presenta un cúmulo inicial de las proteínas de mielina en la región perinuclear del oligodendrocito de la rata *taiep*, a medida que el defecto continúa estas proteínas comienzan a disminuir en cantidad, principalmente la glicoproteína asociada a la mielina (Möller *et al.*, 1997). Otras proteínas que se ven disminuidas de manera progresiva son la proteína básica de mielina, la proteína proteolípida y la enzima 3-fosfodiesterasa-2,3-nucleótido cíclico (Möller *et al.*, 1997; O'Connor *et al.*, 2000). La explicación de estas alteraciones se ha propuesto que es debido a una inestabilidad proteica debido a su acumulación y su degradación proteolítica (Möller *et al.*, 1997; O'Connor *et al.*, 2000).

La disminución de las proteínas de mielina produce una desmielinización progresiva a partir del tercer mes de edad (véase Figura 20), encontrando a los 12 meses de vida una cantidad mínima de axones mielinizados en el sistema nervioso central (Duncan *et al.*, 1992; Lunn *et al.*, 1997; véase Figura 21).

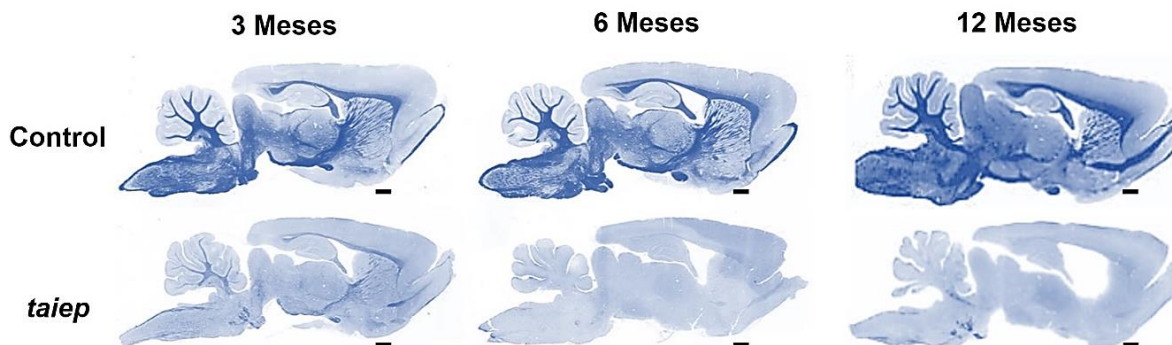


Figura 20. Desmielinización progresiva en la rata *taiep* y comparación con sus controles. Se puede observar que a medida que la rata *taiep* continúa su desarrollo la pérdida de mielina es cada vez mayor, encontrando ya para los 12 meses una mínima cantidad de mielina en el cerebro de la rata, en comparación con una rata SD en la cual la mielina permanece sin modificaciones aparentes a lo largo de la vida. Se puede apreciar además un crecimiento progresivo del ventrículo lateral en la rata *taiep*. Tinción con nitroazul de tetrazolio y aminobencidina. Barra de escala: 1.0 mm. Modificado de Duncan *et al.*, 2017 & O'Connor *et al.*, 2000.

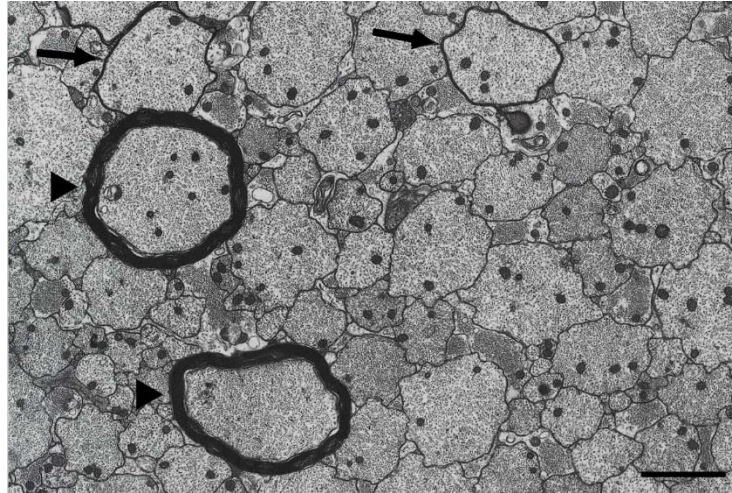


Figura 21. Micrografía electrónica del tracto corticoespinal de una rata *taiep* de 12 meses de edad. Se puede observar que únicamente 2 de los axones presentan una vaina de mielina moderadamente gruesa y bien compactada (punta de flecha), mientras que otros 2 axones presentan vainas notablemente disminuidas (flechas); el resto de los axones se muestra desmielinizado. Barra de escala = 2 μ m. Modificada de Duncan *et al.*, 1992.

El proceso de desmielinización no es homogéneo en los tractos y núcleos del SNC (Lunn *et al.*, 1997; O'Connor *et al.*, 2000). Los tractos que se ven más afectados son aquellos que contienen axones de diámetro pequeño y son mielinizados por oligodendrocitos tipo I y II, mientras que los de diámetro mayor, que son mielinizados por oligodendrocitos tipo III y IV tempranamente, presentan un menor defecto de desmielinización (Lunn *et al.*, 1997; Song *et al.*, 2001; véase Figura 22).

Se ha propuesto que la mayor afectación de los oligodendrocitos tipo I o II, que mielinizan múltiples axones de diámetro pequeño, es porque deben transportar las proteínas asociadas a la mielina a largas distancias y por procesos celulares más estrechos en comparación con los oligodendrocitos tipo III y IV que mielinizan una baja cantidad de axones de diámetro grande (Butt, 2012; O'Connor *et al.*, 2000).

Características electrofisiológicas

Benítez y cols. (1997) mostraron por primera vez alteraciones de tipo sensorial en la rata *taiep*, el estudio de la modalidad somatosensorial mediante potenciales provocados lumboespinales, mostró un retraso en la conducción del componente central, sin modificaciones en el componente periférico. En la corteza visual, los potenciales provocados mostraron una morfología alterada de las ondas del potencial trifásico así como un retardo en la latencia de sus componentes centrales (Benítez *et al.*, 1997).

Los potenciales de acción compuestos del nervio óptico presentan una baja amplitud, un incremento progresivo de sus latencias y una disminución de la velocidad de conducción de manera progresiva (Roncagliolo *et al.*, 2006). En la vía

auditiva, un estudio de potenciales provocados auditivos del tronco del encéfalo mostró que las ratas *taiep* no presentan afectación de la onda I, que corresponde al sistema periférico, mientras que en las ondas II a IV, de origen central, su latencia se prolonga y disminuyen su amplitud de manera progresiva (Roncagliolo *et al.*, 2000).

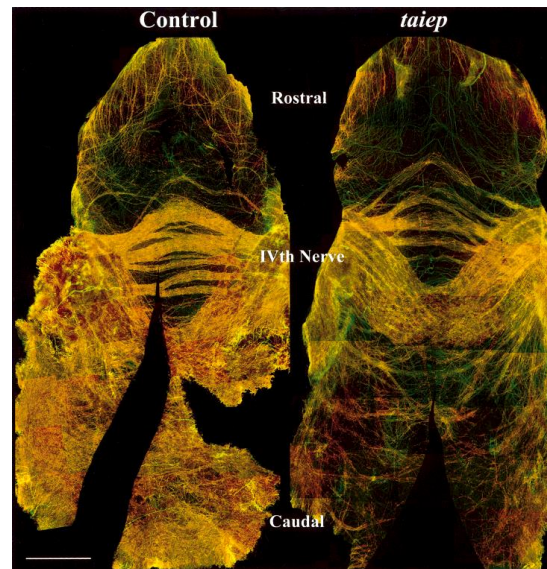


Figura 22. Velo medular anterior del cerebelo en ratas control y *taiep* a los 14 meses de edad. Se realizó una doble tinción con anticuerpos anti-Rip (receptor interacting protein) que indican la presencia de mielina, en rojo y con anticuerpos anti-neurofilamento que indican axones sin mielina, en verde. Se puede notar que la rata control muestra un patrón de mielinización normal, indicado por la coloración amarilla (superposición entre rojo y verde) presente en el área rostral, medial (IVth Nerve) y en el área caudal del velo medular anterior. En la rata *taiep* se presenta un déficit de mielina en el área rostral y caudal, compuestas principalmente de axones de diámetro pequeño, mientras que el área medial correspondiente al IV par craneal de gran diámetro, se presenta un menor déficit de mielinización. Barra de escala = 500 μ m. Modificada de Song *et al.*, 2001.

Al evaluar el desarrollo del reflejo monosináptico en la médula espinal de ratas *taiep* neonatales *in vitro* Fuenzalida y cols. (2004) mostraron que el defecto de mielinización afecta también el proceso de maduración sináptica. En el grupo control el reflejo monosináptico disminuye su latencia entre el día postnatal 4 y el 8, como consecuencia de la maduración sináptica, mientras que en la rata *taiep* la latencia se mantuvo constante, además al aplicar un segundo estímulo la respuesta fue siempre menor (Fuenzalida *et al.*, 2004; véase Figura 23).

Bajo estas condiciones *in vitro*, las motoneuronas de la región lumbar en la rata *taiep* presentan un retraso en la maduración de la primera a la segunda semana postnatal ya que continúan presentando potenciales de acción repetitivos ante un mismo pulso de corriente, mientras que en el grupo control estos disminuyen significativamente (Bonansco *et al.*, 2004). Algunas de estas motoneuronas

presentaron potenciales postsinápticos excitatorios (PPSE) asincrónicos con latencias más amplias (Bonansco *et al.*, 2004; véase Figura 24).

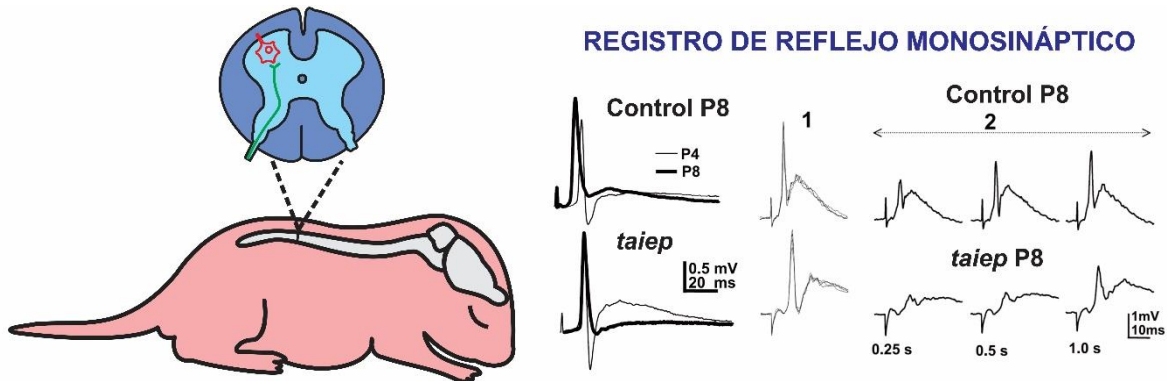


Figura 23. Reflejo monosináptico en la rata *taiep* neonatal. Se muestra que el reflejo monosináptico en la región sacra de la médula espinal presenta una disminución en su latencia del día postnatal 4 (P4) al día 8 (P8) en la rata control, mientras que en la rata *taiep* la latencia se mantiene igual; así mismo, la amplitud de la segunda respuesta a tres intervalos interpulso diferentes (parte derecha) es menor en la rata *taiep*, respecto a la rata control de la misma edad. Elaborada a partir de Fuenzalida *et al.*, 2004.

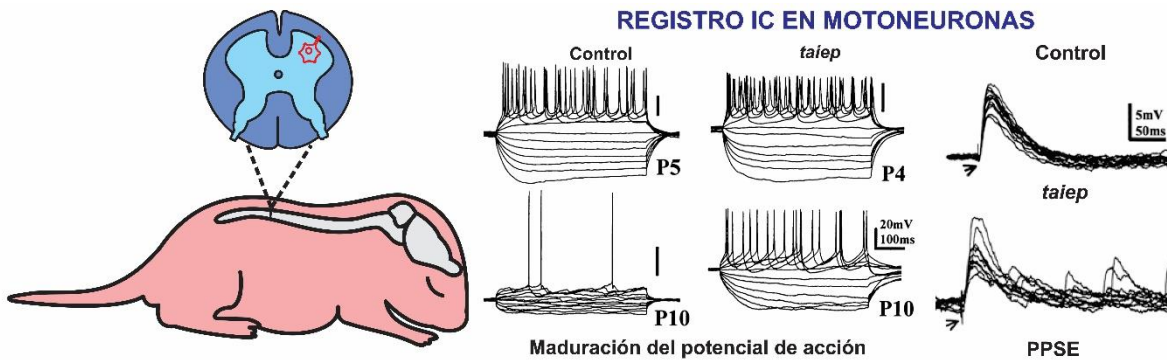


Figura 24. Registro intracelular de motoneuronas del asta anterior. Se muestra la respuesta eléctrica de las motoneuronas lumbares a distintos pulsos de corriente posterior a la despolarización, se obtienen potenciales de acción repetitivos en la primera semana postnatal tanto en la rata control (P5) como en la rata *taiep* (P4), y estos disminuyen considerablemente en la segunda semana en la rata control, pero no así en la rata *taiep* (P10). Se muestran además potenciales postsinápticos excitatorios (PPSE) sobrepuestos en una motoneurona de una rata control, y una motoneurona de una rata *taiep* que presenta múltiples PPSE asincrónicos después del primer PPSE. IC= Intracelular. Elaborada a partir de Bonansco *et al.*, 2004.

Debido a que estos PPSE pueden ser bloqueados por la aplicación de antagonistas para los receptores de glutamato, se llegó a la conclusión de que dichos potenciales son dependientes de la liberación asincrónica de glutamato por la neurona presináptica (Bonansco *et al.*, 2007; Fuenzalida *et al.*, 2009). Estos potenciales asincrónicos pueden explicarse también como un proceso de inmadurez sináptica, debido a que las neuronas hipocampales poseen una menor cantidad de

ramificaciones dendríticas y estas poseen una menor cantidad de espinas y botones sinápticos en comparación con la rata SD (Silva-Gómez *et al.*, 2018). Bonansco y cols. (2007) mostraron que estos PPSE asincrónicos también se presentan en las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo (véase Figura 25).

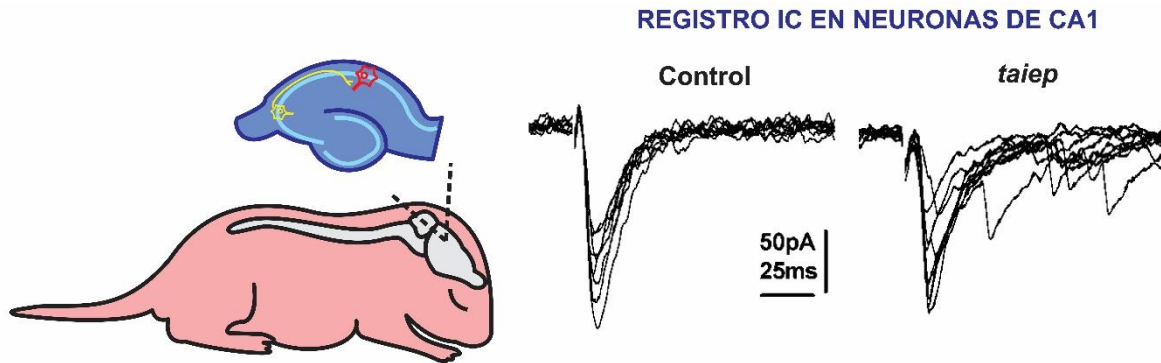


Figura 25. Registro intracelular en neuronas de la región CA1 del hipocampo. Se muestra que la estimulación eléctrica convencional en las neuronas de CA₁ del hipocampo produce la aparición de PPSE sincrónicos en el grupo control, mientras que en la rata *taiep*, el 47% de las neuronas del hipocampo presentan además PPSE asincrónicos. IC= Intracelular. Elaborada a partir de Bonansco *et al.*, 2007.

Características inmunológicas

Asociado al proceso de desmielinización, la rata *taiep* presenta una astrocitosis reactiva progresiva en diversas áreas del SNC desde el mesencéfalo hasta el cerebelo, el diencéfalo y la corteza cerebral (Krsulovic *et al.*, 1999; León-Chavez *et al.*, 2001). Además, los oligodendrocitos del mutante presentan una respuesta incrementada ante estímulos proinflamatorios, como el lipopolisacárido, con sobreproducción de factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y de óxido nítrico (NO₂) (León-Chavez *et al.*, 2003). Recientemente se ha mostrado que los mecanismos de supresión de la inflamación, como el factor de crecimiento transformante β 1, y los relacionados a la proliferación celular, como la citocina CXCL1 (chemokine ligand 1), se encuentran regulados a la baja en la rata *taiep* (Soto-Rodríguez *et al.*, 2015).

Estos mecanismos muestran que la rata *taiep* presenta un microambiente de inflamación crónica que podría estar involucrado en la desmielinización progresiva y a su vez impedir que los procesos de remielinización neuronal se lleven a cabo (Eguibar *et al.*, 2014; Soto-Rodríguez *et al.*, 2015).

3.3.1 La tubulinopatía H-ABC en la rata *taiep*

La hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC, del inglés Hypomyelination with Atrophy of the Basal ganglia and Cerebellum), es un síndrome neurodegenerativo que forma parte de un grupo recién descrito de patologías conocidas como tubulinopatías (van der Knaap *et al.*, 2002). Se debe a una mutación *de novo* en el gen TUBB4A (Simons *et al.*, 2013), que codifica para la β -tubulina 4A, una isoforma específica de los oligodendrocitos en el SNC (Leandro-García *et al.*, 2010; Terada *et al.*, 2005).

Las manifestaciones clínicas se relacionan con las anomalías presentes; la hipomielinización del tracto piramidal produce espasticidad; la atrofia de los ganglios basales se correlaciona con movimientos extrapiramidales como distonía y coreoatetosis; y la atrofia cerebelar con ataxia, temblor de intención y disimetría (Nahhas *et al.*, 2016; van der Knaap *et al.*, 2002). Las manifestaciones sensoriales han sido menos estudiadas, aunque existen reportes que indican déficits severos en la visión y en la audición, desde edades tempranas (Hamilton *et al.*, 2014; Simons *et al.*, 2013; van der Knaap *et al.*, 2002).

Los hallazgos característicos en la imagen por resonancia magnética (IRM) son:

- Hipomielinización cerebral difusa, principalmente afectando el cuerpo calloso y la cápsula interna.
- Atrofia de los ganglios basales que involucran al cuerpo estriado (el putamen y el núcleo caudado), mientras que el tálamo y el globo pálido no suelen verse afectados.
- Hipomielinización con atrofia cerebelosa que afecta de manera prominente al vermis.

El diagnóstico de esta patología se establece con la presencia de manifestaciones clínicas y de IRM característicos (véase Figura 26-A y B) y la identificación de una variante patógena heterocigótica de TUBB4A mediante pruebas genéticas moleculares (Simons *et al.*, 2013; van der Knaap *et al.*, 2002).

Recientemente nuestro grupo de investigación, en colaboración con investigadores de la Universidad de Guanajuato y del Centro de Investigación en Óptica demostraron que la rata *taiep* presenta una mutación en el gen *Tubb4a*, que consiste en una mutación puntual 'G por A' en el exón 4B que implica un cambio de una alanina por una treonina en la posición 302 (Garduno-Robles *et al.*, 2020). Esta mutación estuvo presente de igual manera en una paciente con H-ABC proveniente del estado de Chiapas, México, siendo la primer evidencia de que la rata *taiep* es un modelo animal de esta tubulinopatía (Garduno-Robles *et al.*, 2020).

El mutante presenta temblor fino y ataxia cerebelosa, así como afectación en el componente central de las modalidades de tipo sensorial, similar a los pacientes con H-ABC (Eguibar *et al.*, 2014). De hecho, un estudio reciente muestra que la función auditiva es similar en ratas *taiep* macho adultas y una paciente con esta enfermedad del estado de Chiapas, México (Lopez-Juarez *et al.*, 2020). Las respuestas auditivas del tronco cerebral en la rata *taiep* mostraron latencias más largas en las ondas II a IV, de origen central, incluso estando ausentes en ciertos casos, mientras que los potenciales provocados auditivos en la paciente mostraron la presencia sólo de las ondas I y II, de origen periférico (Lopez-Juarez *et al.*, 2020).

Mediante IRM se ha mostrado que la rata *taiep* presenta cambios morfológicos consistentes en hipomielinización y atrofia difusa en el cerebro y cerebelo (Garduno-Robles *et al.*, 2020; véase Figura 26-C y D). Las manifestaciones conductuales, imagenológicas y electrofisiológicas son similares a aquellas presentes en los pacientes con H-ABC, por lo que la rata *taiep* se ha propuesto como el primer modelo animal para esta tubulinopatía (Garduno-Robles *et al.*, 2020).

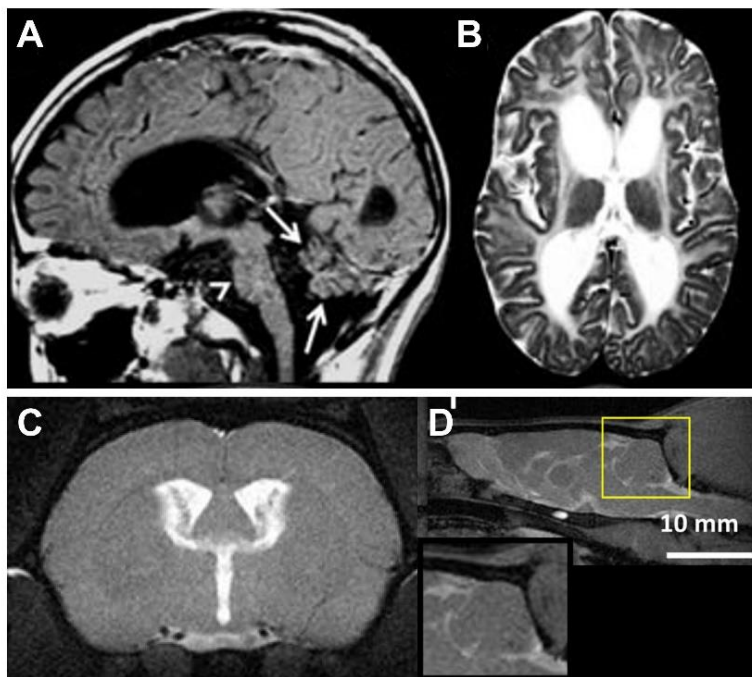


Figura 26. Imagen por resonancia magnética en un paciente con H-ABC y en la rata *taiep*. **A.** Corte mediosagital de IRM secuencia T1 del encéfalo un paciente con H-ABC en la que se observa la atrofia del cerebelo (flechas) y del mesencéfalo (punta de flecha), con un prominente ensanchamiento del ventrículo lateral. **B.** Corte axial de IRM secuencia T2 del encéfalo del mismo paciente con H-ABC en la que se observa una señal hiperintensa de la sustancia blanca, consistente con hipomielinización, así como crecimiento de los ventrículos laterales. **C.** Corte coronal de IRM secuencia T2 del cerebro de una rata *taiep* de 8 meses de edad en la que se muestra un ensanchamiento de los ventrículos laterales y una señal hiperintensa de sus áreas circundantes, los ganglios basales son indistinguibles. **D.** Corte sagital de IRM secuencia T2 del encéfalo de una rata *taiep* de 8 meses de edad en la que se muestra de manera ampliada el cerebelo, el cual se muestra isointenso en su totalidad con respecto al encéfalo, consistente con hipomielinización. Panel A y B modificados de Ferreira *et al.*, 2014. Panel C y D modificados de Garduno-Robles *et al.*, 2020.

4. JUSTIFICACIÓN

Se estima que la prevalencia mundial de crisis de ausencia se encuentra en un rango de 0.4 a 0.7 casos por cada 1,000 niños, sin embargo, debido a la falta relativa de síntomas, la edad de presentación y a que las personas que padecen un episodio no poseen conciencia de que haya sucedido, es factible que los valores reales deban ser mayores a lo reportado (Jallon y Latour, 2005). A pesar de que las crisis de ausencia se consideran una enfermedad que responde de manera adecuada al tratamiento y suele remitir después de la pubertad, un porcentaje de pacientes con este tipo de epilepsia presentan un pronóstico menos favorable y pueden presentar episodios durante toda la vida (Guilhoto, 2017). El mejor entendimiento de los mecanismos que originan y modulan esta patología será fundamental para el desarrollo de nuevas terapias dirigidas hacia los mecanismos que generan y sostienen este tipo de descargas.

Desde finales del siglo pasado había surgido evidencia que llevó al establecimiento de una relación entre la PRL y diversas funciones en el organismo más allá de la producción de leche por las glándulas mamarias (Frantz, 1978). De hecho, para 1998 ya se le adjudicaban 300 funciones biológicas, una cantidad mayor que lo reportado para las otras hormonas hipofisarias (Bole-Feysot *et al.*). A la fecha se ha estudiado, además, su papel en la modulación de diversas patologías que afectan al ser humano tanto en el sistema nervioso como a nivel sistémico, dentro de las cuales se encuentra la epilepsia, donde el rol no es del todo claro (Morales, 2011; Torner, 2016). Por tanto, es preciso analizar si esta hormona puede actuar como una sustancia con efectos neuroprotectores ante las crisis epilépticas, en especial las crisis de ausencia, esto permitirá dilucidar el posible rol de la PRL como una hormona pleiotrópica.

Si bien, a la fecha no se conocen con exactitud los mecanismos fisiopatológicos que generan las crisis de ausencia en la rata *taiep*, se ha descrito que hacia el año de edad muestran una expresión incrementada de canales de sodio en el cerebelo (Black *et al.*, 1999). Así mismo, presenta descargas neuronales asincrónicas tanto en la médula espinal, como en el hipocampo debidas a una liberación no sincrónica de glutamato (Bonansco *et al.*, 2007, 2004; Fuenzalida *et al.*, 2004). Estas anormalidades podrían presentarse también a nivel del tálamo y de la corteza cerebral y explicar, en parte, la aparición de las descargas espiga-onda. Si se parte del hecho de que la PRL es capaz de modular la actividad de diversos canales iónicos generando activación o inactivación de los circuitos neuronales (Brown *et al.*, 2012; Sirzen-Zelenskaya *et al.*, 2011). Es factible postular que pueda influir en la intensidad, duración y frecuencia de las descargas espiga-onda presentadas en nuestro modelo experimental de crisis de ausencia.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es bien sabido que las crisis de ausencia remiten hasta un 80% ante los efectos de la etosuximida y el ácido valproico (Segan, 2018), sin embargo, la gama de efectos adversos que generan van desde ligeros síntomas gastrointestinales, aumento de peso y cefalea hasta sedación y cambios en la personalidad, generando, en algunos casos, incluso un alto grado de hepatotoxicidad que puede culminar en la muerte del paciente (Porter *et al.*, 2016). De aquí la necesidad de la búsqueda de nuevas sustancias que puedan utilizarse para el tratamiento de las crisis de ausencia con una mayor especificidad, lo que asegure una mayor seguridad en cuanto a su utilización.

A pesar de la evidencia creciente que ha demostrado que la PRL puede actuar como un factor neuroprotector y es capaz de disminuir la aparición de crisis epilépticas en diversos modelos experimentales (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017; Torner, 2016). A la fecha solo existe un estudio que evalúe el papel de la PRL como modulador de las crisis de ausencia en las ratas WAG/Rij (Kovács *et al.*, 2017), por lo que es necesaria la realización de nuevos diseños experimentales para determinar si esta hormona ejerce un efecto protector o deletéreo sobre este tipo de epilepsia, para buscar a futuro su uso como parte de un tratamiento concomitante de esta patología.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la prolactina sobre las crisis de ausencia en ratas *taiep* hembras adultas, evaluando la frecuencia, duración, duración intercrisis y la latencia para la primera crisis de ausencia en registros electroencefalográficos de 12 horas de duración.

5.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de la prolactina en las descargas espiga-onda que tienen las ratas *taiep* hembras adultas?

6. HIPÓTESIS

H₀: La administración central de prolactina de rata disminuirá la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

H_A: La administración central de prolactina de rata incrementará la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

6.1 Variables de estudio

Dependiente: Complejos espiga-onda presentes en el electroencefalograma.

Independiente: Administración central de prolactina.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

- Determinar el efecto de la administración central de prolactina sobre las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

7.2 Objetivos particulares

- Realizar registros electroencefalográficos de 12 horas en la rata *taiep* hembra adulta en condiciones control.
- Obtener registros electroencefalográficos de 12 horas en la rata *taiep* hembra adulta, posterior a la administración intracerebroventricular de prolactina a diferentes dosis.
- Analizar la frecuencia y duración de las descargas espiga-onda así como la latencia para la primera crisis en ratas *taiep* hembras adultas en condiciones control y posterior a la administración intracerebroventricular de prolactina a diferentes dosis.

8. METODOLOGÍA

8.1 Animales de experimentación

Para el propósito de este estudio, se utilizaron ratas *taiep* hembra de 6 meses de edad provistas por el Bioterio de Investigación del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El grupo experimental se dividió en dos subgrupos de análisis, el primero donde cada rata actúa como su propio control y el subgrupo de estudio que se considera posterior a la administración de prolactina.

8.2 Prolactina

Para identificar el efecto de la hormona prolactina se utilizó prolactina recombinante de rata expresada en *E. coli* (SRP4689 – Sigma-Aldrich™, Estados Unidos de América) que se encuentra en forma liofilizada con un peso molecular de 22.5kDa y que consiste en 198 aminoácidos. El vial que contiene a la prolactina se centrifugó antes de abrir, se reconstituyó en solución vehículo (NaCl 145 mM y tampón de fosfato 0,01 M a un pH de 7.4) y se administró diluida en 2µL de solución vehículo.

La hormona se administró por vía i.c.v. a tres dosis: 0.5, 1 y 2 µg disueltas en 2 µL de solución, ya que se ha demostrado previamente que en esa concentración la PRL es capaz de difundir extensamente por el LCR (Landas *et al.*, 1982), y activar diversas áreas neuronales (Donner *et al.*, 2007; Naef y Woodside, 2007; Sapsford *et al.*, 2012).

8.3 Descargas espiga-onda

Los criterios para identificar las descargas espiga-onda son:

- a) Una serie de descargas que se presentan como una espiga ascendente que culmina en forma de onda amplia y desciende por debajo de la línea basal.
- b) La frecuencia de descargas está en el rango de los 4 a 8Hz.
- c) La duración de las descargas debe ser mayor a 1 segundo.
- d) La actividad debe presentarse en todos los canales de EEG.
- e) El inicio y el término de las descargas deben presentarse de manera abrupta.

Además, al observar el video acoplado al registro la rata debe mostrarse conductualmente quieta.

8.4 Instrumentos para la investigación

Para el registro de EEG, EOG y EMG, así como para la administración de prolactina se requirió de la colocación previa de electrodos y una cánula de acero inoxidable a la rata por medio de cirugía estereotáxica. Para el montaje del animal se utilizó un

Instrumento estereotáxico para animales pequeños en forma de U (Modelo 900LS, Stoelting, Estados Unidos de América). El procedimiento se realizó con instrumental quirúrgico de acero inoxidable y suturas de monofilamento (Tabla 2), mientras que los trépanos en el cráneo se realizaron con un dremel de acero inoxidable acoplado a una Herramienta Rotatoria (Modelo 8782 Santul[®], Estados Unidos de América). Se implantó un electrodo bipolar de platino trenzado recubierto de teflón, tres electrodos de tornillo de acero inoxidable y tres electrodos de gancho de nicromio. Además, se implantó una cánula guía de acero inoxidable calibre 22.

A las ratas se les realizó una ovariectomía (OVx) bilateral sobre una plataforma quirúrgica para rata (Stoelting, Estados Unidos de América), el procedimiento se realizó también con instrumental quirúrgico de acero inoxidable y suturas de monofilamento (véase Tabla 3). También se les tomó un frotis vaginal con agua inyectable (Pisa[™], México) mediante una pipeta tipo Pasteur de 1.5 mm de diámetro acoplada a una perilla; para visualizar el frotis vaginal se utilizaron portaobjetos y un microscopio óptico binocular (Konus[®], México).

Tabla 3. Instrumental quirúrgico requerido para las cirugías

| Instrumento | Cantidad | Instrumento | Cantidad |
|-------------------------------|----------|-----------------------------------|----------|
| Pinzas hemostáticas | 4 | Tijeras de mayo | 1 |
| Legra periostotomo | 1 | Pinzas de disección | 1 |
| Mango de bisturí No. 4 | 1 | Pinzas Adson | 2 |
| Hoja de bisturí No. 20 | 1 | Pinzas Dumont | 1 |
| Portaagujas | 1 | Desarmador plano | 1 |
| Sutura de nylon 4-0 | 1 | Sutura de ácido poliglicólico 3-0 | 1 |

Para la administración i.c.v. se utilizó una jeringa Hamilton de 5 μ L equipada con una cánula de inyección conectada a la cánula guía para dispensar la solución. La velocidad de administración fue de 1 μ L/min. La cánula se dejó en su lugar durante 1 minuto después de la inyección para evitar el reflujo de la solución.

Para la adquisición del EEG se utilizó una unidad de registro de EEG Grael LT System, (Compumedics[®], Reino Unido) sincronizado a una cámara de video de alta definición (Sony, Japón), para el registro de las descargas espiga-onda se obtuvo la señal digitalizada en el programa NetBeacon (Network Router, Reino Unido) y para calificar los registros el programa Profusion Sleep (Compumedics[®], Reino Unido) bajo un sistema de cómputo con el sistema operativo Windows[®].

8.5 Técnicas y procedimientos

8.5.1 Condiciones ambientales

Las ratas *taiep* se mantuvieron en cajas colectivas de acrílico transparente de 6mm de grosor, con medidas de 32 cm de ancho, 47 cm de largo y 20 cm de alto permaneciendo 2 a 3 por caja con cama de viruta de madera presurizada (Aspen beta chip, Estados Unidos de América), con un ciclo de luz-oscuridad 12:12 con encendido de las luces a las 0700, con una temperatura controlada de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de 30-45%. Se les proporcionó acceso libre a alimento balanceado (LabDiet 5008, Purina[®], Estados Unidos de América) y agua purificada (Ciel[®], Coca Cola[™], México).

8.5.2 Preparación prequirúrgica

El día de la cirugía se examinó a cada rata para asegurar que se encontraba en condiciones adecuadas de salud analizando su apariencia y su conducta general. El instrumental quirúrgico se mantuvo en condiciones de asepsia y a disponibilidad de una mesa de trabajo tipo Mayo.

Se indujo anestesia general a la rata mediante la administración intraperitoneal conjunta de ketamina (Anesket[®], Pisa[™], México) y xilacina (Procin[®] Cheminova[™], México) a dosis de 75 mg/Kg y 5 mg/Kg, respectivamente. Para la cirugía estereotáxica se realizó tricotomía de la región superior de la cabeza, mientras que para la OVx la tricotomía se llevó a cabo en la región lumbar dorsal de la rata, ambas mediante una rasuradora eléctrica (Osner[™], Estados Unidos de América). En ambos casos, se administró analgesia sistémica mediante la aplicación de 2 mg/Kg del analgésico flunixin meglumina (Napzin[®] Pisa[™], México) por vía subcutánea en la región dorsal del cuello.

8.5.3 Cirugía estereotáxica

La rata se montó en el instrumento estereotáxico y se realizó antisepsia de la región dorsal de la cabeza con yodopovidona al 10% (Isodine[®], México). Se hizo una incisión de 5 cm en la piel sobre el cráneo y se disecaron los tejidos subcutáneos para exponer el cráneo, entonces se removió el periostio con una legra. Se procedió a localizar bregma y lambda sobre el cráneo, alineando bregma con lambda en el eje dorsoventral (DV; véase Figura 28), las medidas de bregma en este eje y el eje mediolateral (ML) se utilizaron como referencia de extereotaxia cero-cero.

Utilizando las coordenadas de Paxinos y Watson (2013) y la configuración de electrodos de Eguibar y Cortés (2010), se realizó un trépano en el hueso parietal derecho (ML= -2.5 mm, AP= -4 mm) para la colocación del electrodo bipolar en la región CA₁ del hipocampo (DV= -2.5 mm), y en el hueso parietal izquierdo (ML= +2

mm, AP= -0.72 mm) para colocar la cánula guía en el ventrículo lateral izquierdo (DV= -4mm). Además, se realizó un trépano en el lado derecho del hueso frontal y dos sobre el hueso parietal izquierdo para colocar los tres electrodos de tornillo en contacto con las cortezas frontal, parietal y occipital para el registro de electrocorticograma. Adicionalmente, se insertaron dos electrodos de alambre de nicromio en los músculos de la nuca para el electromiograma y uno más en la región superior de la órbita izquierda para el registro electrooculográfico (véase Figura 29). Se suturó la región de la nuca expuesta y al finalizar, todos los electrodos se fijaron al cráneo con resina acrílica (Nic Tone®).

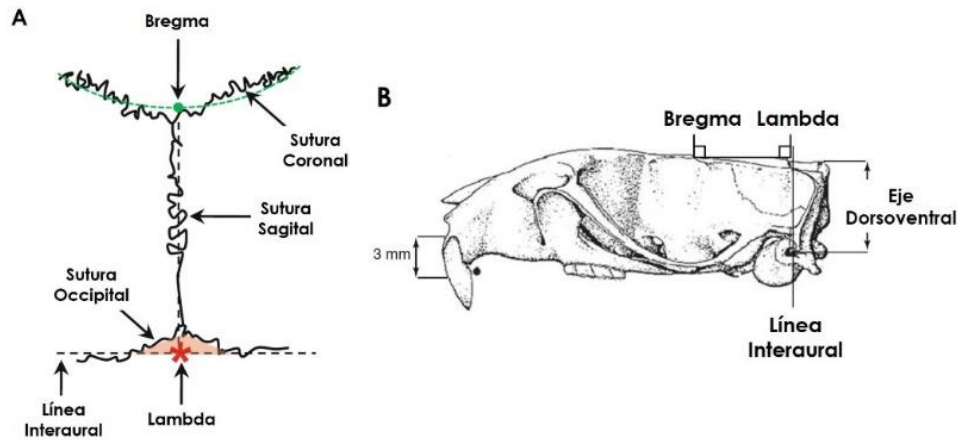


Figura 27. Disposición esquemática de las suturas craneales y ajuste del cráneo con el aparato estereotáxico en el eje dorsoventral. A. Se puede notar que el punto localizado en la unión de la sutura coronal y la sutura sagital corresponde a Bregma (punto verde) y el punto de unión entre la sutura sagital y la sutura occipital corresponde a Lambda (asterisco). B. Se muestra una vista lateral del cráneo de una rata en la que se observa la alineación de Bregma y Lambda en el eje dorsoventral. Modificada de Ferry *et al.*, 2014.

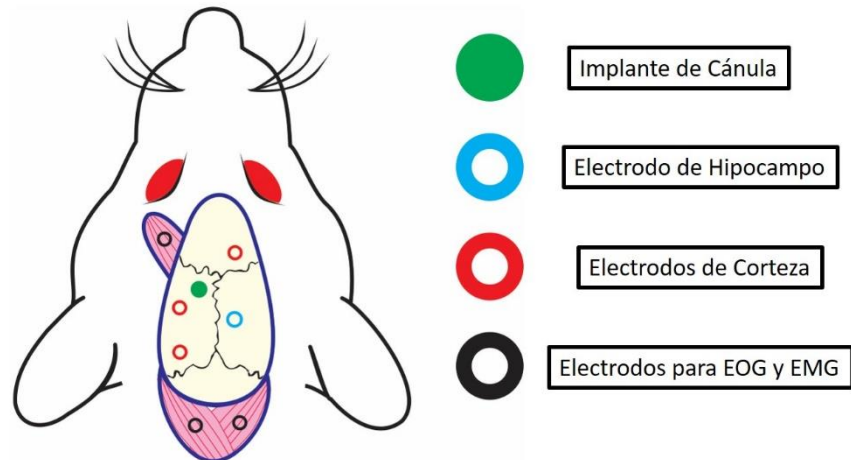


Figura 28. Representación gráfica del sitio de colocación de los electrodos en la rata *taiep* hembra adulta. Se puede notar en el área expuesta del cráneo la presencia de las suturas craneales que sirven como referencia para las coordenadas donde se han de colocar los electrodos de hipocampo y de corteza y la cánula intracerebroventricular, se muestran además fibras musculares en la región de la nuca y la órbita donde se colocan los electrodos para Electrooculograma (EOG) y Electromiograma (EMG), respectivamente. Elaboración propia.

8.5.4 Ovariectomía

El procedimiento se realizó de acuerdo con la técnica previamente descrita (Idris, 2011; Stout-Steele y Bennett, 2011). La rata se colocó sobre la almohadilla térmica en la plataforma quirúrgica, se realizó antisepsia de la región lumbar con yodopovidona al 10% y se realizó una incisión de 1cm en la línea media justo por debajo de la línea del último cuerpo costal. Se disecó el tejido subcutáneo hacia uno de los lados de la incisión para exponer el músculo, se realizó un corte sobre este y con las pinzas Adson se localizó y extrajo el ovario con su oviducto de la cavidad peritoneal. Se colocó una pinza hemostática en el oviducto y se realizó una ligadura con la sutura de ácido poliglicólico por debajo de la pinza. Se procedió entonces a remover el ovario cortando por arriba de la pinza con tijeras rectas, se retiró esta y se suturó el músculo con sutura de ácido poliglicólico 3-0. Posteriormente se realizó el mismo procedimiento en el otro lado de la incisión para retirar el otro ovario. Una vez finalizado el procedimiento se suturó la incisión de la piel con puntos separados con sutura de nylon 4-0.

8.5.5 Cuidados posquirúrgicos

Al finalizar el procedimiento quirúrgico se mantuvo estrecha vigilancia de la rata para corroborar la adecuada recuperación de la anestesia, y se continuó con la administración diaria de analgesia subcutánea, además se agregó antibioticoterapia mediante una mezcla de lincomicina y espectinomicina sulfato (Five-Lincopectin[®], Fivevet[™], Estados Unidos de América) por vía s.c. a dosis de 16 y 32 mg/Kg respectivamente, durante 5 días. Las ratas fueron evaluadas diariamente y se contó con la supervisión del M.V.Z. Omar Isidro Maldonado, y la M. en C. Araceli Ugarte Rojano.

8.5.6 Reemplazo hormonal y toma de frotis vaginal

Posterior a la OVx, se realizó un reemplazo de estrógenos mediante una dosis diaria de 2 µg de 17-β estradiol vía subcutánea para mantenerlas en etapa de estro persistente (Isaksson *et al.*, 2011). Previo a cada registro de EEG se llevó a cabo un lavado vaginal con una pipeta tipo Pasteur con 0.2 mL de agua inyectable. El lavado vaginal se colocó en un portaobjetos donde se dejó secar y posteriormente se tiñó con hematoxilina y eosina para observar en un microscopio óptico binocular (Konus[®], México). La etapa de estro se determinó con la presencia predominante de células epiteliales queratinizadas anucleadas con una muy baja o nula cantidad de neutrófilos (Cora *et al.*, 2015).

8.5.7 Habitación preregistro

Para la habituación de la rata a las condiciones de registro electroencefalográfico se colocó en una caja de acrílico transparente en un cuarto sonoamortiguado en

condiciones estándar de bioterio y se conectó mediante los electrodos a un sistema móvil giratorio tipo swivel durante 3 horas por tres días.

8.5.8 Registro control

El registro control de EEG, EMG y EOG se llevó a cabo posterior a la administración i.c.v. de 2 μ L de agua inyectable, iniciando a las 0800, con una duración total de 12 horas, durante el registro la rata pudo moverse libremente en la caja, alimentarse, beber agua y dormir, incluso en posición ovillada y fue monitorizada mediante una cámara de video acoplada al registro.

8.5.9 Registros tras la administración de prolactina

Se realizaron tres registros experimentales de EEG, EMG y EOG para cada rata, previa administración de las dosis de 0.5, 1 y 2 μ g de PRL, respectivamente. Cada registro se llevó a cabo con 48 horas de separación, iniciando siempre a las 0800 h, con una duración de 12 horas cada uno. Durante el registro la rata podía moverse libremente en la caja y era monitorizada mediante una cámara de video acoplada al registro.

8.5.10 Evaluación de la correcta colocación de la cánula i.c.v.

Se administraron 2 μ L de violeta de cresilo de manera i.c.v., se dio un tiempo de difusión del colorante de 20 minutos, posterior al cual se procedió a realizar eutanasia de la rata mediante la administración de pentobarbital sódico, a dosis de 70 mg/kg. Se extrajo el encéfalo y se le realizó un corte sagital a la altura del implante de la cánula de manera perpendicular a la dirección de esta. La correcta posición de la cánula en el ventrículo lateral izquierdo se corroboraba si el colorante había difundido adecuadamente en esta cavidad.

8.6 Procesamiento de los datos

Al término de los registros se procedió a identificar las descargas espiga-onda presentadas en cada uno, cuantificando la frecuencia y duración de cada una, así como la latencia a la aparición de cada crisis. Con las cuantificaciones realizadas se creó una base de datos mediante el programa SigmaPlot versión 11 (Systat Software Inc., 2008, Estados Unidos de América), separando la información correspondiente a cada grupo, considerando intervalos de 60 minutos en cada registro.

Los datos cuantificados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas, posteriormente fueron analizados por una prueba *post-hoc* de Dunnet para distinguir las diferencias entre el grupo control y los grupos experimentales. El nivel de significancia estadística se estableció con un valor de $P < 0.05$.

Se realizó una gráfica lineal de la media \pm error estándar de la frecuencia y duración de las crisis de ausencia, así como de la duración intercrisis de cada grupo. Para la frecuencia media total, la duración media total, la duración intercrisis total y latencia a la primera crisis se realizó una gráfica de barras considerando igualmente la media \pm error estándar.

Adicionalmente se utilizó el programa MatLab (The MathWorks, Inc, 2017, Estados Unidos de América) para realizar un ajuste de la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia a una onda sinusoidal durante las 12 horas de registro mediante el análisis Cosinor. Además, se calculó la amplitud, la estimación estadística de la línea del media ritmo (MESOR, de sus siglas en inglés midline estimating statistic of rhythm) y la acrofase. Con el mismo programa se realizó un gráfico de reloj y elipse.

9. IMPLICACIONES ÉTICAS

La investigación científica es la principal herramienta que ha permitido ampliar los conocimientos en el área de la fisiología, siendo necesaria, en la gran mayoría de las veces, la utilización de seres vivos como modelos de experimentación, por lo que la realización de un proyecto de investigación debe apegarse a pautas éticas y morales que aseguren el trato digno para los individuos que participen en dicha investigación.

El cuidado y mantenimiento de las condiciones ambientales del bioterio, la selección del alimento y del agua para las ratas, los cuidados durante el confinamiento y transporte de estas, así como los procedimientos experimentales incluyendo la analgesia, anestesia, el procedimiento quirúrgico, la administración de prolactina y la eutanasia de las ratas se realizó en conformidad a la Norma Oficial Mexicana de las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999, SAGARPA, 2001) y la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos de América (National Academy of Sciences., 2011).

En esta misma guía la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos de América plantea la estrategia de las 3 Rs – Reemplazo, Refinamiento y Reducción – para un manejo adecuado y ético de los animales de experimentación. La utilización de la rata *taiep* que presenta crisis de ausencia de manera espontánea *reemplazó* la utilización de modelos animales a los que se les pudiera inducir esta patología; así mismo, una adecuada anestesia y analgesia pre y postoperatoria permite el *refinamiento* del proceso para mejorar el bienestar del animal y minimizar el dolor durante y posterior al procedimiento (Gottschalk y Smith, 2001). Adicionalmente el utilizar un mismo animal como su propio control y los 3 grupos experimentales *redujo* la cantidad de animales requeridos para la realización de este proyecto, como indica el principio de las 3 R's para el uso de animales de laboratorio.

10. RESULTADOS

Al evaluar la frecuencia de las crisis de ausencia en intervalos de una hora, la administración central de prolactina no mostró diferencias significativas con respecto al control con ninguna de las 3 dosis probadas ($P>0.05$; véase Figura 30).

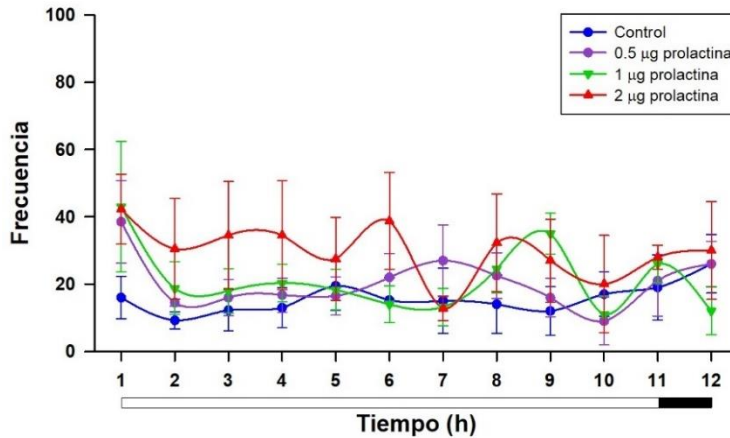


Figura 29. Efecto de la administración central de prolactina sobre la frecuencia de crisis de ausencia en la rata *taiep*. No se obtuvieron diferencias significativas en la frecuencia de crisis con ninguna de las tres dosis administradas. Las barras muestran el periodo de luz (barra clara) y la oscuridad (barra negra).

Sin embargo, al considerar la cantidad total de crisis de ausencia presentadas durante todo el registro, la prolactina incrementó la frecuencia total media de crisis presentadas con respecto al control (91.83 ± 29.63 crisis) en un 43% para la dosis de $0.5 \mu\text{g}$ (131.7 ± 34.73 crisis), un 49% para la dosis de $1 \mu\text{g}$ (137 ± 32.18 crisis) y un 120% para la dosis de $2 \mu\text{g}$ (202.8 ± 36.32 crisis). El análisis estadístico mostró que el incremento fue significativo para la dosis de $2 \mu\text{g}$ (ANOVA $F_{(3,23)}=7.1$, $P<0.01$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.01$; véase Figura 31).

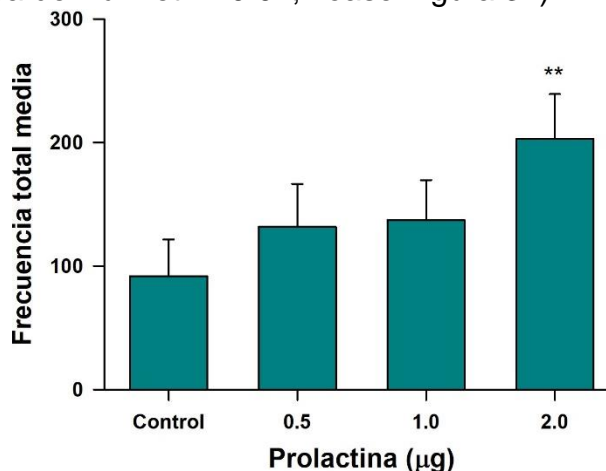


Figura 30. Efecto de la administración central de prolactina sobre la frecuencia total media de crisis de ausencia en la rata *taiep*. La dosis de $2 \mu\text{g}$ de prolactina incrementó significativamente la cantidad total media de crisis de ausencia con respecto al grupo control (desde 91.83 ± 29.63 crisis hasta 202.8 ± 36.32 crisis con la dosis de $2 \mu\text{g}$; ANOVA $F_{(3,23)}=7.1$, $P<0.01$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.01$; ** $P<0.01$).

Durante las 12 horas del registro electroencefalográfico del grupo control, el análisis estadístico de Cosinor no mostró la presencia de un ritmo con respecto a la frecuencia de las crisis de ausencia (Cosinor $F_{(2,61)}=1.42$, $P>0.05$; véase Figura 32). La dosis de 2 μg de prolactina duplicó el valor medio estimado estadísticamente de la frecuencia de las crisis de ausencia respecto al grupo control (Desde 14.22 hasta 28.40 crisis por hora; véase Figura 32-A). La administración central de prolactina no produjo una ritmicidad en la frecuencia de las crisis de ausencia durante las 12 horas del registro, similar a lo presentado en el grupo control (Cosinor $F_{(2,61)}=2.59$, $P>0.05$; véase Figura 32-B).

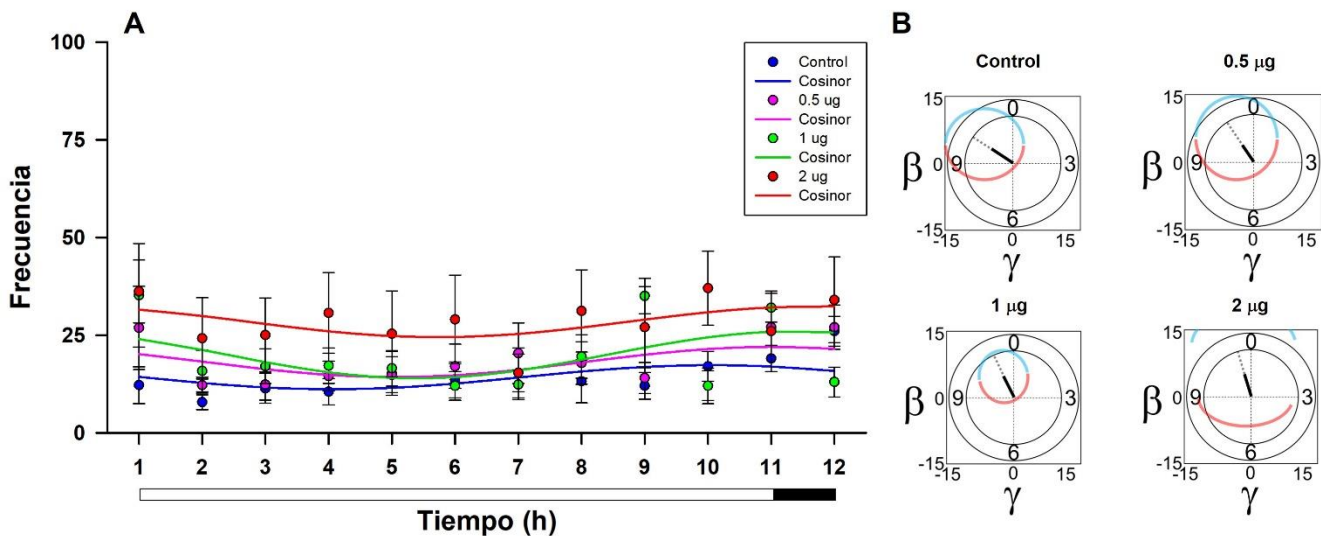


Figura 31. Frecuencia de crisis de ausencia por hora y su relación con el valor medio y la ritmicidad estimada mediante el análisis de Cosinor. A) Se muestra la relación entre la frecuencia de crisis de ausencia presentada y la estimada mediante el análisis de Cosinor. Como se puede notar, en ninguno de los cuatro grupos experimentales se obtuvo un ajuste adecuado de la curva sinusoidal lo que muestra ausencia de ritmo. El valor estimado de la frecuencia con la dosis de 2 μg es el doble de la estimada para el grupo control. **B)** Se muestran los gráficos de reloj y elipse obtenidos con el programa MatLab para la ritmicidad de la frecuencia de las crisis de ausencia de los cuatro grupos experimentales. El reloj representa las 12 horas del registro dividido en 4 cuadrantes de 3 horas cada uno. En el centro del gráfico de reloj se muestra un vector, cuya magnitud representa la amplitud de la onda sinusoidal y la dirección representa la hora de la acrofase. Las líneas semielípticas roja y azul representan la elipse de ritmicidad calculada. Como se puede notar, las líneas contactan con más de un cuadrante, lo que implica la ausencia de ritmo en las 12 horas de registro. Las barras muestran el periodo de luz (barra clara) y la oscuridad (barra negra).

En la duración media de las crisis de ausencia por hora, con la dosis de 0.5 μg de PRL se incrementó significativamente su valor a la tercera, sexta, séptima, octava, décima y doceava hora después de la administración (véase Figura 33 y Tabla 4). A la séptima hora se presentó un incremento máximo en la duración, desde 1.99 ± 0.15 hasta alcanzar 4.01 ± 0.26 s (ANOVA $F_{(3,271)}=10.9$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.001$).

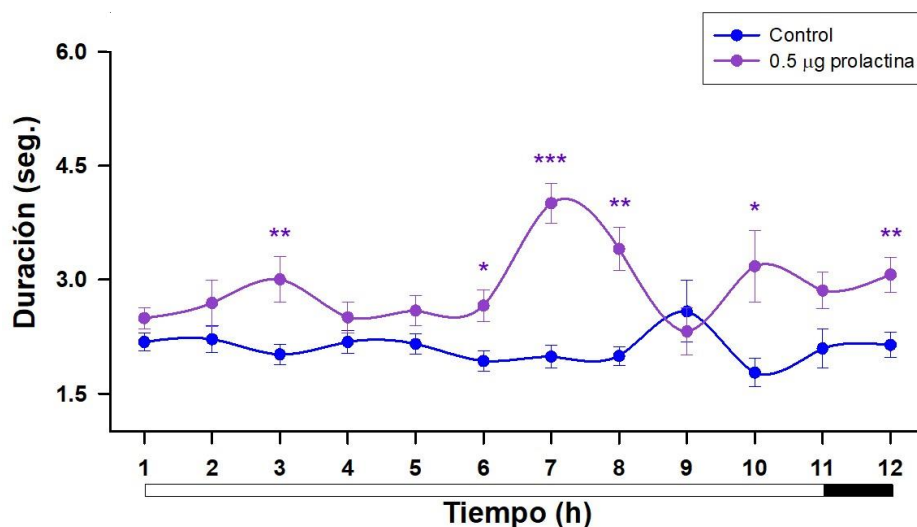


Figura 32. Efecto de la administración de 0.5 μg de prolactina en la duración media de las crisis de ausencia. El intervalo de tiempo comprendido desde la sexta hasta la octava hora después de administrar PRL obtuvo un incremento significativo de la duración media de las crisis de ausencia, con un pico máximo a la séptima hora. A la tercera, décima y doceava hora se presentaron también incrementos significativos respecto al grupo control (* $P<0.05$, ** $P<0.01$ y *** $P<0.001$). Las barras muestran el periodo de luz (barra clara) y la oscuridad (barra negra).

Tabla 4. Comparación de la duración de las crisis de ausencia por hora entre el grupo control y el grupo tratado con 0.5 μg de prolactina

| Hora | Duración ⁺ | | ANOVA | | Prueba de Dunnet significancia |
|------|-----------------------|-------------------|--------|---------------|--------------------------------|
| | Control | 0.5 μg | F | Significancia | |
| 1° | 2.18 \pm 0.11 | 2.49 \pm 0.14 | 1.278 | 0.281 | 0.164 |
| 2° | 2.22 \pm 0.18 | 2.69 \pm 0.30 | 5.780 | 0.001 | 0.256 |
| 3° | 2.02 \pm 0.13 | 3.00 \pm 0.30 | 4.057 | 0.008 | 0.008 |
| 4° | 2.18 \pm 0.15 | 2.50 \pm 0.21 | 2.533 | 0.057 | 0.251 |
| 5° | 2.15 \pm 0.13 | 2.59 \pm 0.19 | 5.512 | 0.001 | 0.141 |
| 6° | 1.93 \pm 0.13 | 2.66 \pm 0.21 | 5.606 | 0.001 | 0.033 |
| 7° | 1.99 \pm 0.15 | 4.01 \pm 0.26 | 10.901 | 0.001* | 0.001* |
| 8° | 2.00 \pm 0.12 | 3.40 \pm 0.28 | 8.279 | 0.001* | 0.001 |
| 9° | 2.58 \pm 0.41 | 2.32 \pm 0.31 | 0.561 | 0.643 | 0.852 |
| 10° | 1.78 \pm 0.19 | 3.18 \pm 0.47 | 4.555 | 0.007 | 0.010 |
| 11° | 2.09 \pm 0.25 | 2.86 \pm 0.24 | 2.025 | 0.116 | 0.069 |
| 12° | 2.14 \pm 0.17 | 3.07 \pm 0.23 | 3.182 | 0.028 | 0.004 |

+ Los datos representan la media \pm el E.E.M. * Valor menor a 0.001

La administración i.c.v. de 1 µg de prolactina incrementó significativamente la duración de las crisis de ausencia desde la segunda hasta la octava hora después de su administración, posteriormente a la onceava hora se obtuvo un incremento significativo (véase Figura 34 y Tabla 5). El máximo incremento en la duración se obtuvo a la séptima hora, desde 1.99 ± 0.15 hasta alcanzar 3.64 ± 0.26 s (ANOVA $F_{(3,271)}=10.9$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.001$).

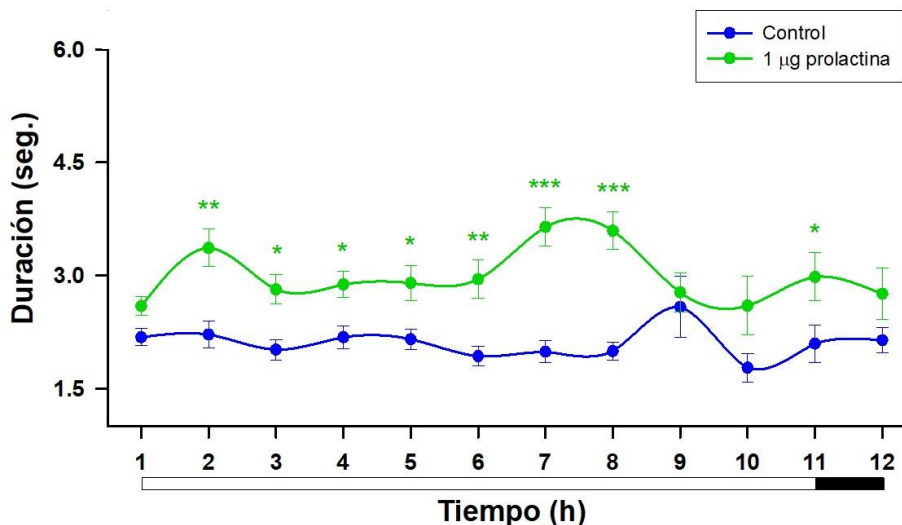


Figura 33. Efecto de la administración de 1 µg de prolactina en la duración media de las crisis de ausencia. Las crisis de ausencia incrementaron significativamente su duración media desde la segunda hasta la octava hora del registro, presentándose un máximo incremento en la séptima hora. Un incremento aislado se obtuvo también a la onceava hora del registro (* $P<0.05$, ** $P<0.01$ y *** $P<0.001$). Las barras muestran el periodo de luz (barra clara) y la oscuridad (barra negra).

Tabla 5. Comparación de la duración de las crisis de ausencia por hora entre el grupo control y el grupo tratado con 1 µg de prolactina

| Hora | Duración ⁺ | | ANOVA | | Prueba de Dunnet significancia |
|------|-----------------------|-------------|--------|---------------|--------------------------------|
| | Control | 1 µg | F | Significancia | |
| 1° | 2.18 ± 0.11 | 2.59 ± 0.13 | 1.278 | 0.281 | 0.071 |
| 2° | 2.22 ± 0.18 | 3.37 ± 0.25 | 5.780 | 0.001 | 0.008 |
| 3° | 2.02 ± 0.13 | 2.82 ± 0.20 | 4.057 | 0.008 | 0.029 |
| 4° | 2.18 ± 0.15 | 2.88 ± 0.17 | 2.533 | 0.057 | 0.014 |
| 5° | 2.15 ± 0.13 | 2.90 ± 0.23 | 5.512 | 0.001 | 0.010 |
| 6° | 1.93 ± 0.13 | 2.95 ± 0.25 | 5.606 | 0.001 | 0.007 |
| 7° | 1.99 ± 0.15 | 3.64 ± 0.26 | 10.901 | 0.001* | 0.001* |
| 8° | 2.00 ± 0.12 | 3.59 ± 0.25 | 8.279 | 0.001* | 0.001* |
| 9° | 2.58 ± 0.41 | 2.78 ± 0.26 | 0.561 | 0.643 | 0.537 |
| 10° | 1.78 ± 0.19 | 2.60 ± 0.39 | 4.555 | 0.007 | 0.107 |
| 11° | 2.09 ± 0.25 | 2.98 ± 0.32 | 2.025 | 0.116 | 0.027 |
| 12° | 2.14 ± 0.17 | 2.76 ± 0.34 | 3.182 | 0.028 | 0.131 |

+ Los datos representan la media ± el E.E.M. * Valor menor a 0.001

La administración de 2 μg de prolactina incrementó significativamente la duración de las crisis de ausencia desde la segunda hasta la octava hora después de su administración, posteriormente a la décima hora se presentó un incremento significativo (véase Figura 35 y Tabla 6). El máximo incremento en la duración se obtuvo a la octava hora del registro, desde 2.0 ± 0.12 hasta alcanzar 3.97 ± 0.25 s (ANOVA $F_{(3,372)}=8.27$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.001$).

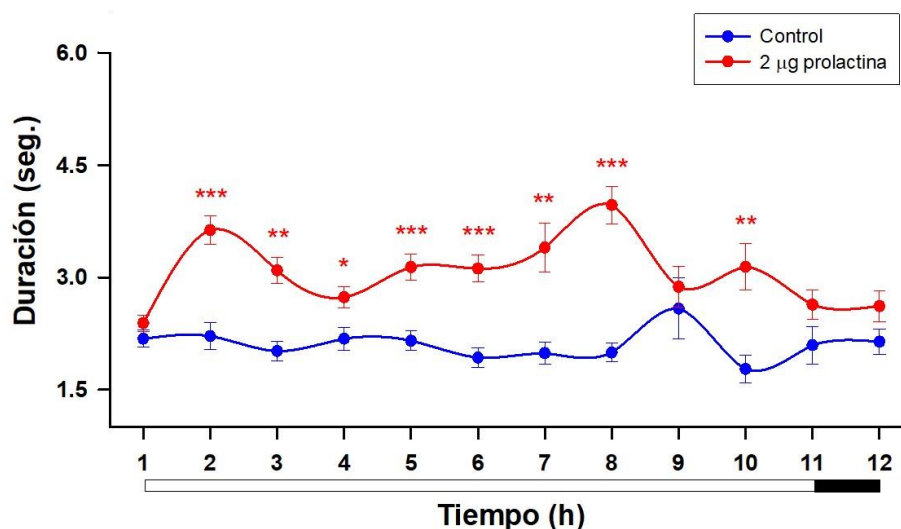


Figura 34. Efecto de la administración de 2 μg de prolactina en la duración media de las crisis de ausencia. Las crisis de ausencia incrementaron significativamente su duración media desde la segunda hasta la octava hora del registro, presentando un incremento máximo en la octava hora. Un incremento significativo se obtuvo también a la décima hora del registro. (* $P<0.05$, ** $P<0.01$ y *** $P<0.001$). Las barras muestran el periodo de luz (barra clara) y la oscuridad (barra negra).

Tabla 6. Comparación de la duración de las crisis de ausencia por hora entre el grupo control y el grupo tratado con 2 μg de prolactina

| Hora | Duración ⁺ | | ANOVA | | T de Dunnet significancia |
|------|-----------------------|-----------------|--------|---------------|---------------------------|
| | Control | 2 μg | F | Significancia | |
| 1° | 2.18 \pm 0.11 | 2.39 \pm 0.11 | 1.278 | 0.281 | 0.307 |
| 2° | 2.22 \pm 0.18 | 3.63 \pm 0.19 | 5.780 | 0.001 | 0.001* |
| 3° | 2.02 \pm 0.13 | 3.09 \pm 0.17 | 4.057 | 0.008 | 0.001 |
| 4° | 2.18 \pm 0.15 | 2.74 \pm 0.14 | 2.533 | 0.057 | 0.034 |
| 5° | 2.15 \pm 0.13 | 3.14 \pm 0.18 | 5.512 | 0.001 | 0.001* |
| 6° | 1.93 \pm 0.13 | 3.12 \pm 0.18 | 5.606 | 0.001 | 0.001* |
| 7° | 1.99 \pm 0.15 | 3.40 \pm 0.33 | 10.901 | 0.001* | 0.001 |
| 8° | 2.00 \pm 0.12 | 3.97 \pm 0.25 | 8.279 | 0.001* | 0.001* |
| 9° | 2.58 \pm 0.41 | 2.87 \pm 0.27 | 0.561 | 0.643 | 0.460 |
| 10° | 1.78 \pm 0.19 | 3.14 \pm 0.31 | 4.555 | 0.007 | 0.002 |
| 11° | 2.09 \pm 0.25 | 2.64 \pm 0.20 | 2.025 | 0.116 | 0.163 |
| 12° | 2.14 \pm 0.17 | 2.62 \pm 0.21 | 3.182 | 0.028 | 0.130 |

+ Los datos representan la media \pm el E.E.M. * Valor menor a 0.001

El análisis de la duración media total de las crisis de ausencia mostró un incremento significativo con las tres dosis probadas de prolactina (ANOVA $F_{(3,36)}=27.89$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.001$; véase Figura 36).

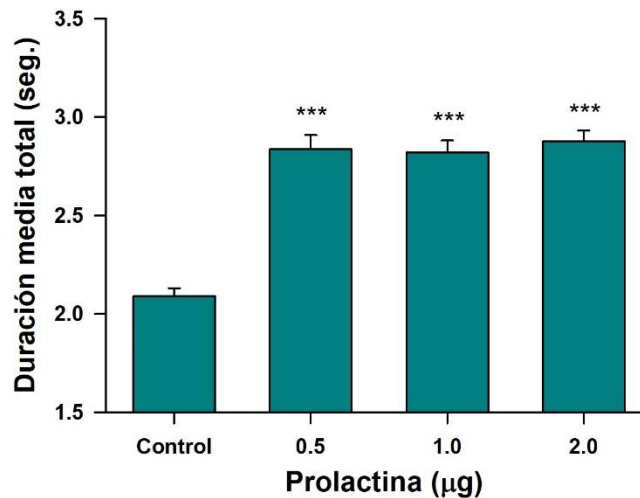


Figura 35. Efecto de la administración central de prolactina sobre la duración media total de las crisis de ausencia. La administración central de 0.5, 1 y 2 µg de prolactina incrementó significativamente la duración total de las crisis de ausencia (Desde 2.08 ± 0.04 s hasta 2.83 ± 0.07 , 2.82 ± 0.06 y 2.87 ± 0.05 s, respectivamente; ANOVA $F_{(3,36)}=27.89$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.001$) *** $P<0.001$.

Similar a lo reportado en la frecuencia de las crisis de ausencia, en las 12 horas de registro del grupo control, no se obtuvo la presencia de un ritmo en la duración de las crisis de ausencia (Cosinor $F_{(2,61)}=0.07$, $P>0.05$; véase Figura 37); Tampoco en los grupos experimentales tratados con PRL se obtuvo un ritmo en la duración de las crisis de ausencia (Cosinor $F_{(2,61)}=2.59$, $P>0.05$; véase Figura 37-B).

La latencia a la primera crisis de ausencia se disminuyó significativamente posterior a la administración central de prolactina (ANOVA $F_{(3-23)}=3.45$, $P<0.05$). Esta disminución fue estadísticamente significativa con la dosis de 0.5 µg, desde 617.7 ± 246.2 s hasta alcanzar 56.7 ± 43.7 s (prueba *post hoc* de Dunnet $P<0.05$) y con la dosis de 2 µg de prolactina, desde 617.7 ± 246.2 s hasta alcanzar 98.5 ± 36.8 s (prueba *post hoc* de Dunnet $P<0.05$), pero no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con la dosis de 1 µg de PRL ($P>0.05$, véase Figura 38).

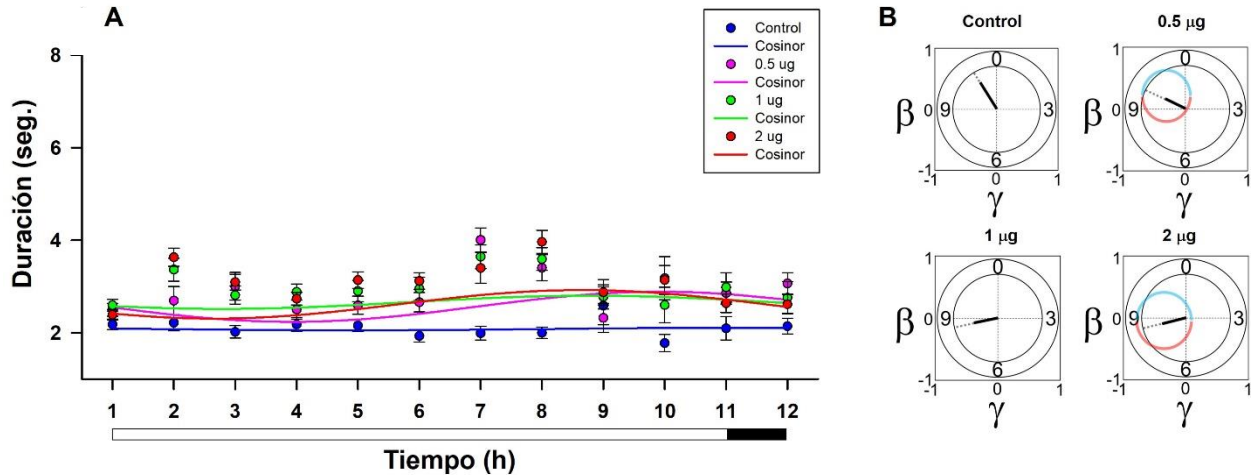


Figura 36. Duración de las crisis de ausencia por hora y su relación con el valor medio y la ritmicidad estimada mediante el análisis de Cosinor. **A)** Se muestra la relación entre la duración de crisis de ausencia presentada y la estimada mediante el análisis de Cosinor. En ninguno de los cuatro grupos se presentó un ajuste adecuado con la curva sinusoidal elaborada debido a la ausencia de ritmo. **B)** Se muestran los gráficos de reloj y elipse para la ritmicidad de la duración de las crisis de ausencia de los 4 grupos. El reloj representa las 12 horas del registro dividido en cuatro cuadrantes de tres horas cada uno. En el centro del gráfico de reloj se muestra un vector, cuya magnitud representa la amplitud de la onda sinusoidal y la dirección representa la hora de la acrofase. Las líneas semielípticas roja y azul representan la elipse de ritmicidad calculada. En el caso de las dosis de 0.5 y 2 µg las líneas semielípticas contactan con más de un cuadrante, lo que implica la ausencia de ritmo. En el caso del grupo control y la dosis de 1 µg las líneas semielípticas rebasan los márgenes exteriores del reloj, por lo que no se muestran. Las barras muestran el periodo de luz (barra clara) y la oscuridad (barra negra).

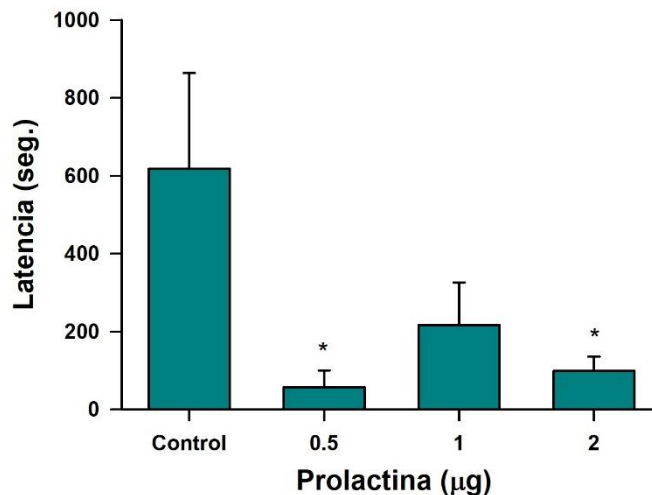


Figura 37. Efecto de la administración central de prolactina en la latencia para la aparición de la primera crisis de ausencia. Las dosis de 0.5 y 2 µg disminuyeron significativamente la latencia para la aparición de la primera crisis de ausencia, desde 617.7 ± 246.2 s hasta 56.7 ± 43.7 y 98.5 ± 36.8 s, respectivamente (ANOVA $F_{(3-23)}=3.45$, $P<0.05$, seguido de la prueba de Dunnet $P<0.05$, * $P<0.05$). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con la dosis de 1 µg de PRL.

La administración de 0.5 μg de prolactina no modificó el periodo de tiempo entre cada crisis de ausencia (duración intercrisis) en el análisis realizado cada hora ($P < 0.05$; véase Figura 39-A). La administración de 1 μg de prolactina disminuyó significativamente la duración intercrisis a la segunda, cuarta y novena hora de su administración (ANOVA $F_{(3-290)} = 3.82$, $P < 0.05$; véase Figura 39-B). La disminución máxima se presentó a la novena hora, donde se presentó con un valor de 17% con respecto al grupo control (ANOVA $F_{(3-83)} = 1.92$, $P < 0.05$, seguido de la prueba de Dunnet $P < 0.05$). Mientras que con la dosis de 2 μg de prolactina disminuyó la duración intercrisis desde la segunda hasta la cuarta hora y nuevamente a la octava hora del registro (véase Figura 39-C). En la segunda hora se obtuvo una máxima disminución, de hasta un 25% respecto al grupo control (ANOVA $F_{(3-290)} = 3.82$, $P < 0.05$, seguido de la prueba de Dunnet $P < 0.01$). El análisis de la duración intercrisis total mostró una disminución significativa para las tres dosis probadas con respecto al grupo control (ANOVA $F_{(3-3667)} = 12.11$, $P < 0.001$; véase Figura 39-D).

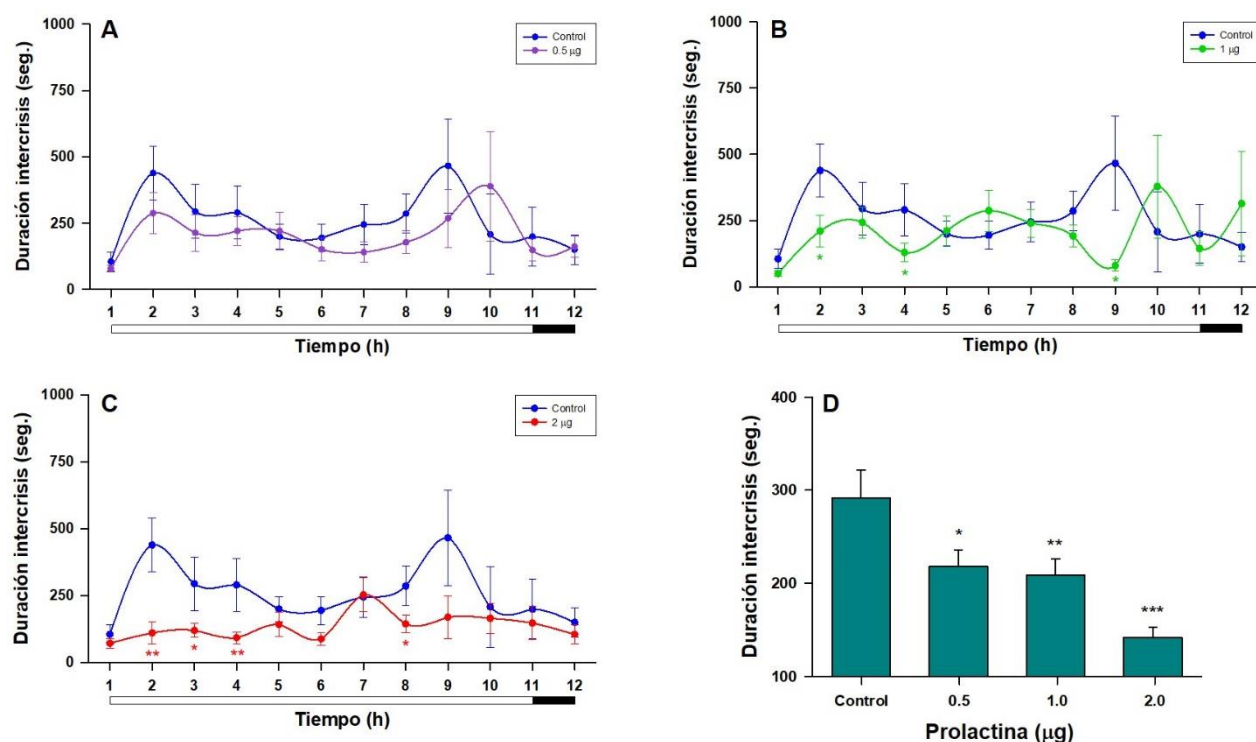


Figura 38. Efecto de la administración central de prolactina en el periodo de tiempo entre cada crisis de ausencia. **A)** Con la dosis de 0.5 μg de prolactina no se obtuvo un cambio significativo con respecto al grupo control. **B)** La dosis de 1 μg disminuyó la duración intercrisis a la segunda, cuarta y novena hora del registro, el decremento máximo se presentó a la novena hora, con una reducción hasta un 17% respecto al grupo control. **C)** La dosis de 2 μg de prolactina disminuyó significativamente la duración intercrisis desde la segunda hasta la cuarta hora del registro y una segunda reducción significativa a la octava hora post-administración de PRL. **D)** La duración intercrisis media total disminuyó significativamente en los tres grupos experimentales (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ y *** $P < 0.001$). Las barras muestran el periodo de luz (barra clara) y la oscuridad (barra negra).

11. DISCUSIÓN

En 1972 Nicoll y Bern hicieron una recopilación extensa de las funciones conocidas de la prolactina hasta ese momento. Esta revisión mostró que existían al menos ochenta y dos funciones biológicas de la hormona en distintos animales vertebrados, planteando que la PRL podría tener la función de regular los diversos procesos fisiológicos importantes en la adaptación a varios nichos ecológicos. Veintiséis años después, en una revisión elaborada por Bole-Feysot y cols. (1998) las funciones biológicas atribuidas a la PRL eran ya más de trescientas, incluyendo por vez primera la regulación que ejerce esta hormona peptídica sobre algunas condiciones patológicas.

Actualmente se sabe que la PRL influye en la historia natural de diversas patologías, incluyendo enfermedades neurológicas, autoinmunes, metabólicas y oncológicas (Bernard *et al.*, 2019; Freeman *et al.*, 2000).

En la epilepsia, la primera relación entre la PRL y las crisis epilépticas fue la propuesta por Michael Trimble en 1978. Su hipótesis planteaba que durante una crisis epiléptica la actividad eléctrica anormal en el encéfalo podría estimular al hipotálamo y a la hipófisis e incrementar la secreción de esta hormona, ya que en estudios previos se había mostrado que la estimulación eléctrica en el área preóptica del hipotálamo incrementaba la concentración plasmática de PRL (Clemens *et al.*, 1971). Los resultados de su investigación mostraron por primera vez que esta hormona incrementa su concentración plasmática posterior a una crisis epiléptica motora generalizada (Trimble, 1978). Posteriormente se mostró que el efecto se presenta de manera constante tanto en crisis epilépticas generalizadas de presentación motora, como en otros tipos de crisis epilépticas incluyendo las de origen focal, especialmente en las que la conciencia se ve alterada (Chen *et al.*, 2005; Dana-Haeri *et al.*, 1983; Pritchard, 1991). Por tanto, actualmente la hiperprolactinemia secundaria a una crisis epiléptica se utiliza como una herramienta para el diagnóstico diferencial entre estas crisis epilépticas y otros trastornos neurológicos de presentación clínica similar, que no se asocian a incrementos séricos sustanciales de esta hormona (Sueri *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2021).

En las crisis de ausencia, sin embargo, no se ha mostrado evidencia de que la concentración sérica de prolactina se modifique durante la aparición de una crisis de ausencia, ni que presenten elevaciones sustanciales en el periodo postictal (Bilo *et al.*, 1988; Bye *et al.*, 1985; Wroe *et al.*, 1989).

Los periodos reproductivos como son el embarazo y la lactancia proveen de una ventana natural para el análisis de la epilepsia en condiciones de hiperprolactinemia fisiológica (de Souza *et al.*, 2008). En el embarazo, múltiples estudios han mostrado que aproximadamente en una cuarta parte de las pacientes se presenta una disminución y en una cuarta parte más se incrementa la cantidad de crisis

epilépticas, mientras que en el resto de las mujeres bajo esta condición fisiológica no modificó la frecuencia con que se presentan las crisis epilépticas (Battino *et al.*, 2013; Schmidt *et al.*, 1983; Shahla *et al.*, 2018). En el periodo de lactancia, no se ha observado un cambio significativo en la frecuencia de crisis epilépticas en la mayoría de los estudios realizados (Bardy, 1987; Costa *et al.*, 2005; La Neve *et al.*, 2015; Pennell *et al.*, 2020).

Los estudios llevados a cabo en modelos experimentales de epilepsia muestran que la hiperprolactinemia durante el embarazo y la lactancia se asocia a una reducción significativa de las crisis epilépticas (Berzaghi *et al.*, 1987; Vanoye-Carlo *et al.*, 2008). En el modelo animal de epilepsia inducida por pilocarpina, las ratas preñadas mostraron una disminución en la frecuencia de las crisis epilépticas durante el periodo de embarazo y de lactancia respecto a las ratas hembra no gestantes (Amado y Cavalheiro, 1998). En las ratas Wistar susceptibles a crisis epilépticas de tipo audiogénico Doretto y cols (2003) identificaron una severidad menor en las crisis epilépticas presentadas durante el periodo postparto, siendo el mayor efecto protector durante el amamantamiento de las crías, lo que sugiere un posible rol de la PRL. En este estudio se observó además un incremento significativo en la concentración plasmática de PRL posterior a las crisis epilépticas audiogénicas, similar a lo reportado en pacientes humanos con epilepsia (Chen *et al.*, 2005; Doretto *et al.*, 2003).

Esto ha llevado a plantear la hipótesis de que la liberación de PRL durante una crisis epiléptica de presentación motora es un mecanismo antiepiléptico endógeno que contribuye al cese de la crisis y a delimitar el daño inducido por esta patología cerebral (Doretto *et al.*, 2003). A favor de esta hipótesis, en el modelo animal de epilepsia inducida por la administración sistémica de ácido kaínico, la aplicación previa de PRL disminuye la intensidad de las crisis epilépticas y las lesiones inducidas por excitotoxicidad a nivel del hipocampo, especialmente en las regiones del cuerno de Ammon CA1, CA3 y CA4 (Morales *et al.*, 2014; Reyes-Mendoza y Morales, 2016; Tejadilla *et al.*, 2010). Este efecto protector de la PRL se debe a que esta hormona reduce significativamente la entrada de calcio mediada por glutamato e incrementa la actividad de enzimas antioxidantes y la expresión de diversos genes relacionados a la neuroprotección, remodelación y neurogénesis (Cabrera-Reyes *et al.*, 2019; Rivero-Segura *et al.*, 2019, 2017).

En la rata WAG/Rij, Tolmacheva y cols. (2004) mostraron que la frecuencia de las crisis de ausencia disminuye significativamente durante la mayor parte del embarazo, se incrementa en el día previo al parto y se reduce nuevamente en el tercer día postparto. En un estudio más reciente en el mismo modelo animal de crisis de ausencia se reportó que la reducción significativa en el periodo postparto no se presenta ya hacia la segunda semana de lactancia, sin embargo, durante el amamantamiento de las crías la frecuencia de las crisis de ausencia se incrementó

significativamente respecto a los periodos sin la presencia de las crías. (Kovács *et al.*, 2017).

En el estudio llevado a cabo en el laboratorio mostramos que la administración de 2 µg de PRL incrementa significativamente la frecuencia total de crisis de ausencia presentadas en la rata *taiep* hembra. Este resultado es similar a lo reportado en la rata WAG/Rij durante los periodos de amamantamiento (Kovács *et al.*, 2017), en los que la PRL alcanza la concentración sérica más elevada, planteando así que esta hormona podría favorecer la activación de las estructuras tálamo-corticales asociadas a las crisis de ausencia. Las crisis epilépticas han sido estudiadas como eventos de presentación súbita, impredecibles y no interrelacionados (Bancaud *et al.*, 1981). Sin embargo, con los métodos de análisis y de registros electroencefalográficos actuales, se sabe que la aparición, el desarrollo y el cese de una crisis epiléptica es un proceso gradual en el que participan diversas estructuras neuronales de manera coordinada (Lüttjohann y van Luijtelaar, 2015; Sunderam *et al.*, 2007).

Mediante registros electroencefalográficos en humanos y en registros de potenciales de campo en modelos animales se ha logrado determinar que el inicio de las crisis de ausencia depende de la activación de un foco epiléptico localizado en regiones corticales específicas (Carney *et al.*, 2010; Meeren *et al.*, 2002). En pacientes humanos, estudios de magnetoencefalografía han mostrado que las crisis de ausencia podrían originarse entre la corteza prefrontal medial y la corteza orbitofrontal (Bai *et al.*, 2010; Miao *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2020). En la rata WAG/Rij, Meeren y cols. (2002) localizaron el foco epiléptico en la región perioral de la corteza somatosensorial primaria, mientras que en la rata GAERS, las neuronas de las capas V y VI de la misma corteza incrementan su frecuencia de descarga previo a la generalización de las descargas espiga-onda (Polack *et al.*, 2007).

El mecanismo de iniciación de una crisis de ausencia comienza con la activación de las neuronas localizadas en el foco epiléptico cortical, que han de modular la actividad eléctrica de diversos núcleos de relevo en el tálamo, especialmente el núcleo talámico posterior (Lüttjohann y van Luijtelaar, 2012; Sysoeva *et al.*, 2014; véase Figura 40). Este núcleo está a su vez interconectado con el núcleo reticular del tálamo (NRT), el núcleo ventral posteromedial y recíprocamente con la corteza cerebral (Kostopoulos, 2001). En ratas WAG/Rij la estimulación eléctrica del foco epiléptico cortical favorece la aparición de descargas espiga-onda en el electroencefalograma (Lüttjohann *et al.*, 2011), mientras que su inactivación tras la aplicación de fenitoína, un bloqueador inespecífico de los canales de Na⁺, o su resección cortical impide la iniciación y generalización de las crisis de ausencia (Gurbanova *et al.*, 2006; Scicchitano *et al.*, 2015).

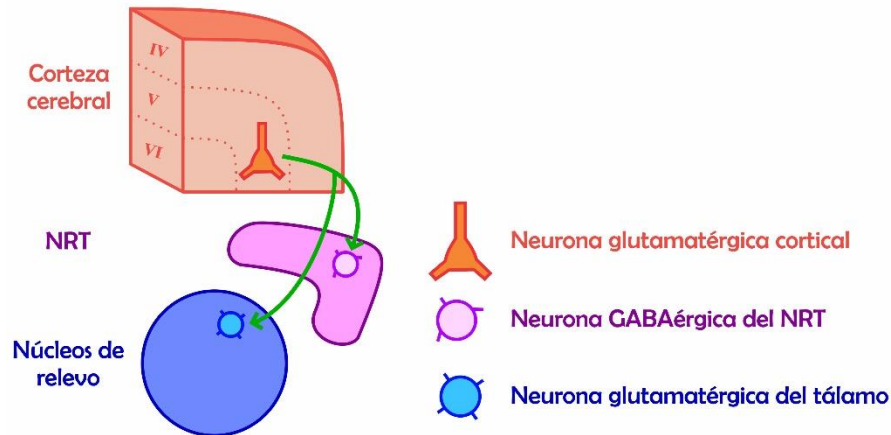


Figura 39. Mecanismo de iniciación de las crisis de ausencia. La señal eléctrica que da inicio a una crisis de ausencia proviene del foco epiléptico localizado en las neuronas de las capas profundas de la corteza cerebral, esta señal se propaga a las neuronas tálamo-corticales de los núcleos de relevo talámico, así como al núcleo reticular del tálamo. NRT: núcleo reticular del tálamo. Elaborada a partir de Lüttjohann y van Luijteleaar, 2015 & Murata y Colonnese, 2019

Estudios *in vitro* han mostrado que la PRL es capaz de incrementar la actividad eléctrica en neuronas de diversos sitios del SNC, como son las neuronas dopaminérgicas de la región tubero-infundibular del hipotálamo, en las que esta hormona puede favorecer la despolarización membranar, y la inducción de un modo tónico de descarga con altas frecuencias de descarga (Brown *et al.*, 2012; Lyons *et al.*, 2012). Se ha descrito que la mayor expresión del receptor de PRL en la corteza cerebral se localiza en las capas V y VI de las cortezas frontal y parietal, sitios asociados con el foco epiléptico en los modelos animales de crisis de ausencia (Bakowska y Morrell, 1997; Polack *et al.*, 2007).

Se desconoce las funciones que la PRL tiene en la corteza cerebral, sin embargo, estudios en ratas hembra han mostrado que la corteza somatosensorial se encuentra significativamente más activa durante el periodo de lactancia (Li *et al.*, 1999); mientras que en pacientes con hiperprolactinemia se ha reportado una alteración en los mecanismos de la inhibición neuronal a nivel cortical (Song *et al.*, 2020). De esta forma, es factible proponer que el incremento en la frecuencia de crisis de ausencia en la rata *taiep*, que se produce tras la administración de PRL, podría deberse a una mayor actividad neuronal excitatoria a nivel cortical, lo cual facilite la iniciación de las crisis de ausencia.

En el protocolo llevado a cabo en ratas WAG/Rij lactantes la frecuencia de crisis de ausencia en los días 12 y 13 del postparto en ausencia de las crías fue similar a la obtenida en el periodo previo al apareamiento, sin embargo, al regresar las crías a las madres la frecuencia se incrementó más del doble su valor en los primeros sesenta minutos, debido a que esto induce un pico de secreción de PRL, podría existir una asociación entre estos eventos (Kovács *et al.*, 2017). El estímulo de

succión es el principal mecanismo que induce un incremento momentáneo en la secreción de PRL durante la lactancia (Dobolyi *et al.*, 2020). Esto se debe a una disminución significativa en la producción de dopamina hipotalámica, el principal factor inhibitorio de la actividad de las células lactótropas, lo que permite la liberación de altas cantidades de PRL (Grattan, 2015; Selmanoff y Gregerson, 1985; véase Figura 41). El incremento en la secreción de PRL es progresivo, alcanzando su valor máximo a los treinta minutos de iniciada la lactancia, y una vez terminado el estímulo, la concentración regresa a los niveles basales (Cservenák *et al.*, 2013; Dobolyi *et al.*, 2020; véase Figura 42).

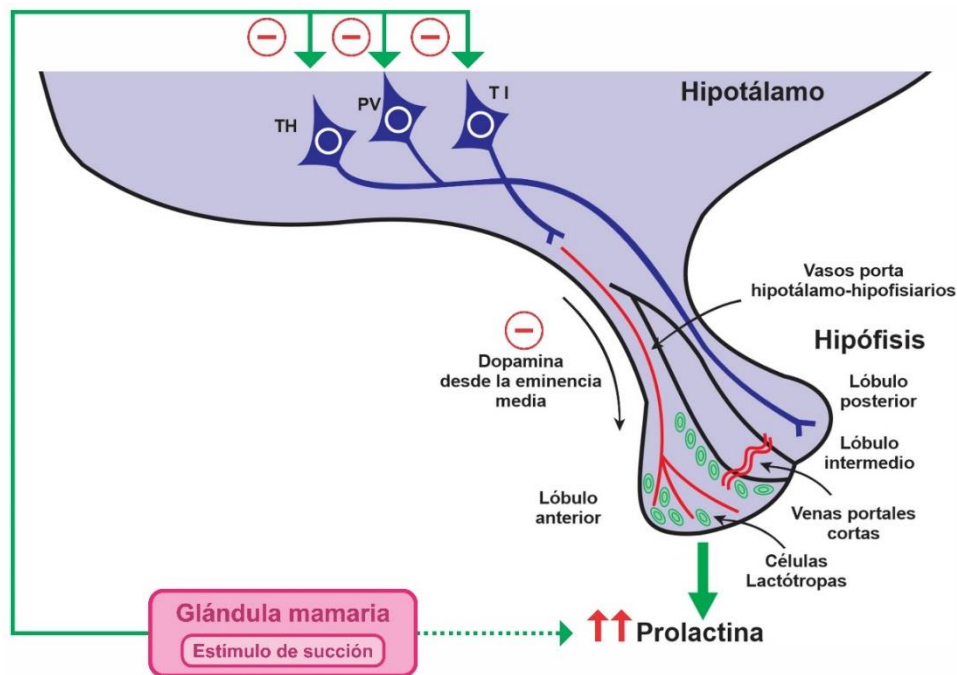


Figura 40. Mecanismo de hiperprolactinemia mediado por el estímulo de succión. Se puede observar que la dopamina producida por neuronas tuberohipofisiales (TH), de la región tuberoinfundibular (TI) y del núcleo paraventricular (PV) inhibe la actividad de las células lactótropas en la adenohipófisis. El estímulo de succión del pezón de la glándula mamaria durante el amamantamiento transmite una señal inhibitoria a las neuronas dopaminérgicas del hipotálamo, lo que disminuye la liberación de dopamina y permite la desinhibición de las células lactótropas de la adenohipófisis, incrementando la síntesis y secreción de prolactina hacia la circulación sanguínea. Elaborada a partir de Grattan y Le Tissier, 2015 & Grattan, 2015.

En la rata *taiep* hembra, mostramos que la administración aguda de PRL con las dosis de 0.5 y 2 μg disminuyó significativamente la latencia para la aparición de la primera crisis de ausencia, y se acortó significativamente el periodo de tiempo entre las crisis de ausencia. Cabe la pena destacar que no se modificó la frecuencia de crisis de ausencia respecto al grupo control en la primer hora del registro. En la rata WAG/Rij, el incremento significativo de la frecuencia de crisis de ausencia asociado al amamantamiento de las crías se interrumpió al retirar nuevamente a las crías, lo que muestra que es el estímulo de succión que libera PRL, el responsable de este

efecto (Kovács *et al.*, 2017). Estos resultados en conjunto muestran que el incremento en la concentración de PRL podría favorecer el mecanismo de inicio de las crisis de ausencia, no obstante, se requiere de una elevación progresiva y durante un periodo de tiempo prolongado para mantener este efecto, ya que al disminuir la concentración el efecto cesa. Estudios llevados a cabo en un modelo de hiperprolactinemia crónica, inducido mediante la administración de fármacos antagonistas dopaminérgicos, podrían contribuir a dilucidar el efecto de esta hormona sobre el proceso de inicio y mantenimiento de las crisis de ausencia.

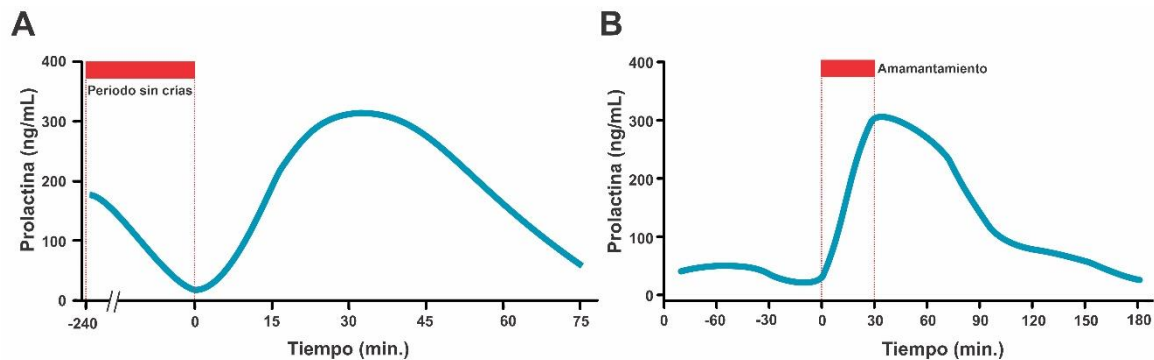


Figura 41. Hiperprolactinemia fisiológica durante el periodo de amamantamiento. **A.** Se muestra la concentración sérica de prolactina en ratas Wistar hembra lactantes a las que se les retiraron las crías durante un periodo de 240 minutos y posteriormente se le regresaron. Se puede observar que, al retirarle las crías la prolactina disminuye su concentración hasta ser casi imperceptible, mientras que en el momento del amamantamiento (a partir del tiempo 0) se produce un pico de secreción que alcanza la mayor concentración a los 30 minutos de iniciar el estímulo. **B.** Se muestra la concentración sérica de prolactina en una paciente en el periodo postparto antes, durante y después del amamantamiento; se puede observar que el amamantamiento induce un incremento sustancial en la concentración de prolactina, con el mayor valor a los 30 minutos de iniciada la lactancia, a partir de que esta cesa, la concentración sérica de prolactina disminuye hasta los valores previos al amamantamiento. Panel A elaborado a partir de Cservenák *et al.*, 2013. Panel B elaborado a partir de Noel *et al.*, 1974.

Durante las crisis de ausencia se presenta un acoplamiento de gran amplitud entre las capas profundas de la corteza cerebral y los núcleos del tálamo, así como una interconexión continua entre los propios núcleos talámicos para asegurar el mantenimiento del circuito reverberante que caracteriza a las crisis de ausencia (Lüttjohann y van Luijtelaa, 2012; véase Figura 43). La frecuencia de descarga neuronal en el circuito tálamo-cortical es controlada tanto por la corteza somatosensorial, como por un conjunto de neuronas de naturaleza GABAérgica localizadas en la porción rostral del NRT (Lüttjohann y van Luijtelaa, 2015; van Luijtelaa *et al.*, 2011).

La porción rostral del NRT ha sido recientemente propuesta como una estructura con funciones de resonancia de la actividad neuronal proveniente del foco epiléptico cortical (Lüttjohann y van Luijtelaa, 2015). Esta región sería la encargada de coordinar el ritmo de descarga neuronal del resto de los núcleos del tálamo involucrados en las crisis de ausencia y de esta manera controlar la duración del

evento epiléptico (Lüttjohann y van Luijelaar, 2015). Mediante estudios farmacológicos realizados en las ratas GAERS se ha mostrado que la inhibición de la porción rostral del NRT disminuye significativamente la duración de las crisis de ausencia, por lo que este núcleo podría estar involucrado directamente en el mantenimiento de las crisis de ausencia (Aker *et al.*, 2006).

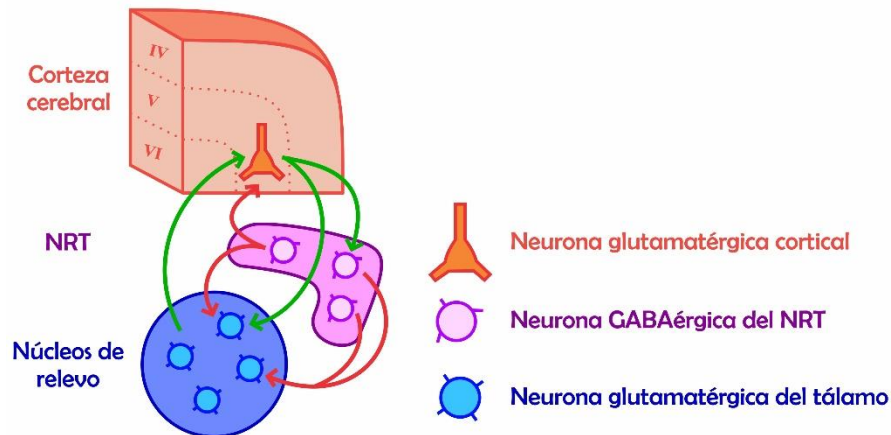


Figura 42. Mecanismo de mantenimiento de las crisis de ausencia. Durante el desarrollo de una crisis de ausencia la señal generada por el foco epiléptico cortical comanda la frecuencia de descarga del núcleo reticular del tálamo, el cual, a su vez, modula la actividad de las neuronas tálamo-corticales en los núcleos de relevo del tálamo, así como de la misma corteza cerebral. Esta actividad coordinada permite el acople continuo entre las tres estructuras. NRT: núcleo reticular del tálamo. Elaborada a partir de Lüttjohann y van Luijelaar, 2015 & Murata y Colonnese, 2019

Los fármacos que actúan sobre el sistema GABAérgico simulan la actividad del NRT en el circuito tálamo-cortical e incrementan la duración de las crisis de ausencia (Manning *et al.*, 2003). En la rata WAG/Rij y en la rata GAERS la administración de vigabatrina, un inhibidor de la enzima GABA transaminasa (GABA-T), responsable de la degradación del GABA, incrementa significativamente la duración de las crisis de ausencia (Bouwman *et al.*, 2007b, 2007a; Perescis *et al.*, 2020). Este efecto se debe a que el fármaco incrementa la concentración del GABA en los núcleos de relevo talámicos, así como en el NRT (Liu *et al.*, 1991). Debido a que la vigabatrina aumenta la concentración intracelular del GABA, el incremento de la duración de las crisis de ausencia se mantuvo durante las primeras seis horas del registro (Perescis *et al.*, 2020).

Los resultados de nuestro grupo de trabajo mostraron que la PRL incrementa la duración de las crisis de ausencia en las ratas *taiep* hembras, en forma dosis-dependiente (Véase Figuras 32-34). Para las dosis de 1 y 2 μg , el efecto se mantuvo desde la segunda hasta la octava hora tras su administración, similar a los efectos obtenidos con el uso de vigabatrina (Bouwman *et al.*, 2007b). Investigaciones llevadas a cabo en modelos animales de hiperprolactinemia, tanto fisiológica como inducida han mostrado que esta hormona puede modular la actividad del sistema GABAérgico (Duvilanski *et al.*, 2003; Racagni *et al.*, 1984). En ratas Fisher

portadoras de un injerto hipofisiario secretor de prolactina, Felman y Tappaz (1989) reportaron que la PRL es capaz de disminuir la actividad de la enzima GABA-T en la adenohipófisis, lo cual se asoció a un incremento en la concentración del neurotransmisor inhibitorio GABA. En ratas Sprague-Dawley lactantes se ha mostrado que el incremento en la concentración de GABA mediado por PRL es debido a una mayor actividad de la enzima glutamato descarboxilasa (GAD), la cual es la limitante en la biosíntesis de GABA a partir del aminoácido glutamato (Racagni *et al.*, 1984).

Locatelli y cols. (1985) administraron PRL vía i.c.v. a la dosis de 2 μ g a ratas Sprague-Dawley machos y cuantificaron la actividad de la enzima GAD, así como la concentración plasmática y tisular de GABA posterior a su administración. La PRL incrementó significativamente la actividad de esta enzima a nivel hipotalámico y generó una elevación sustancial en la concentración de GABA en la adenohipófisis y en el plasma del sistema portal hipofisiario (Locatelli *et al.*, 1985). Este estudio muestra que esta hormona puede ejercer también un efecto directo sobre el sistema GABAérgico de forma aguda, por tanto, el incremento en la duración de las crisis de ausencia obtenido tras la aplicación de PRL con 2 μ g en ratas *taiep* podría deberse a una mayor actividad de este sistema en el tálamo, asemejando la actividad resonadora del NRT sobre el circuito tálamo-cortical que mantiene a las crisis de ausencia.

En el diencefalo la mayor expresión del receptor de PRL se localiza en las neuronas dopaminérgicas y GABAérgicas del hipotálamo, así como en los núcleos de relevo del tálamo (Bakowska y Morrell, 2003, 1997). La mayor expresión de este receptor en el tálamo se presenta en los núcleos anterior, intermediodorsal y paraventricular, sin embargo, se desconoce la función que la PRL podría ejercer en esta estructura diencefálica (Cabrera-Reyes *et al.*, 2017; Roky *et al.*, 1996). Un estudio reciente muestra que los pacientes con hiperprolactinemia presentan una conectividad funcional incrementada desde el tálamo hacia la corteza cerebral y el cerebelo (Yao *et al.*, 2020). La realización de nuevos estudios es necesaria para determinar el efecto que la PRL ejerce a nivel del tálamo y poder determinar si este efecto puede asociarse a la fisiopatología de las crisis de ausencia.

El incremento en la duración de las crisis de ausencia en la rata *taiep* tras la administración de PRL presentó su máximo valor durante la séptima y octava hora posterior a su administración central. Las diversas vías de señalización intracelular activadas por la unión de esta hormona a su receptor culminan con la transcripción génica y la síntesis de proteínas *de novo* (Brooks, 2012; Grattan y Le Tissier, 2015). En las neuronas dopaminérgicas del hipotálamo, por ejemplo, la PRL induce la síntesis de la enzima tirosina hidroxilasa, responsable de la producción de dopamina (Grattan, 2015; Ma *et al.*, 2005).

Duvilanski y cols. (1987) mostraron en neuronas hipotalámicas cultivadas *in vitro* que la administración de PRL al medio de cultivo incrementó tanto la secreción de GABA, así como la actividad de la enzima GAD. En este estudio, el máximo incremento en la actividad de la enzima GAD se presentó seis horas después de haberse aplicado la PRL, este máximo incremento se debió a una mayor síntesis de esta enzima, ya que la administración conjunta de cicloheximida, un inhibidor de síntesis de proteínas, impide que se presente dicho efecto (Duvilanski *et al.*, 1987). Es factible proponer que el mayor efecto de la PRL en la duración de las crisis de ausencia en horas posteriores a su administración podría deberse a la síntesis de nuevas proteínas en neuronas del circuito tálamo-cortical.

Las crisis de ausencia se caracterizan por la presencia de descargas espiga-onda en el electroencefalograma y dependen de una serie de eventos coordinados para ser manifestadas clínicamente. Ahora se sabe que es la activación anómala de un foco cortical hiperexcitable lo que comanda el ritmo de descargas neuronales en el tálamo, y el mantenimiento en el tiempo de este circuito neuronal a través de la actividad en el núcleo reticular del tálamo. La prolactina, es una hormona pleiotrópica con múltiples funciones a nivel periférico y central, tanto en condiciones fisiológicas, como patológicas. Es capaz de actuar tanto en el mecanismo de iniciación, como en el de mantenimiento de las crisis de ausencia, como hemos mostrado por primera vez en este trabajo de tesis en la rata *taiep*, el único modelo animal de tubulinopatías con crisis de ausencia.

12. CONCLUSIONES

- La prolactina incrementa la frecuencia de crisis de ausencia en la rata *taiep* hembra adulta.
- El mayor efecto presentado de la prolactina es el incremento de la duración de las crisis de ausencia en la rata *taiep* hembra adulta.
- La administración central de prolactina disminuye la latencia para la primera crisis de ausencia y el periodo intercrisis de ausencia en la rata *taiep* hembra adulta.
- El circuito tálamo-cortical, sitio responsable de la iniciación y el mantenimiento de las descargas espiga-onda características de las crisis de ausencia, puede ser modulado por la hormona prolactina.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahumada Juárez, J.C., 2020. Evaluación del efecto de dopaminérgicos y serotoninérgicos sobre el patrón de la marcha en el mutante de mielina *taiep*: una modelo de esclerosis múltiple. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Aker, R.G., Ozyurt, H.B., Yananlı, H.R., Cakmak, Y.O., Ozkaynakçi, A.E., Sehirli, U., Saka, E., Cavdar, S., Onat, F.Y. (2006). GABA(A) receptor mediated transmission in the thalamic reticular nucleus of rats with genetic absence epilepsy shows regional differences: functional implications. *Brain Research* **1111**: 213–221.
- Alonso-Vanegas, M.A., Rubio, F. (2013). Programa prioritario de epilepsia en México. En: *Epilepsia en Latinoamérica*. Edición por Kestel, D., Acevedo, C., Medina, M.T., Mesa, T., Rodríguez, J. Editorial Unidad de salud mental y uso de sustancias de la Organización Panamericana de la Salud, pp. 53–58.
- Alsina, J. (1970). Sobre la enfermedad sagrada. *Boletín del Instituto de Estudios Helénicos* **4**: 87–96.
- Amado, D., Cavalheiro, E.A. (1998). Hormonal and gestational parameters in female rats submitted to the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Research* **32**: 266–274.
- Amenomori, Y., Chen, C.L., Meites, Joseph, J.(1970). Serum prolactin levels in rats during different reproductive states. *Endocrinology* **86**: 506–510.
- Anch, A.M., Powell, E., Bloom, C., Dyche, J., Faulkner, K., Richter, R.R. (2000). Locomotor analysis of the *taiep* rat. *The Journal of General Psychology* **127**: 412–425.
- Augustine, R.A., Ladyman, S.R., Bower, G.T., Alyousif, Y., Sapsford, T.J., Scott, V., Kokay, I.C., Grattan, D.R., Brown, C.H. (2017). Prolactin regulation of oxytocin neurone activity in pregnancy and lactation. *The Journal of Physiology* **595**: 3591–3605.
- Avoli, M. (2012). A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia* **53**: 779–789.
- Bachelot, A., Binart, N. (2007). Reproductive role of prolactin. *Reproduction* **133**: 361–369.
- Bai, X., Vestal, M., Berman, R., Negishi, M., Spann, M., Vega, C., Desalvo, M., Novotny, E.J., Constable, R.T., Blumenfeld, H. (2010). Dynamic time course of typical childhood absence seizures: EEG, behavior, and functional magnetic resonance imaging. *The Journal of Neuroscience* **30**: 5884–5893.
- Bakowska, J.C., Morrell, J.I. (2003). The distribution of mRNA for the short form of the prolactin receptor in the forebrain of the female rat. *Molecular Brain Research* **116**: 50–58.
- Bakowska, J.C., Morrell, J.I. (1997). Atlas of the neurons that express mRNA for the long form of the prolactin receptor in the forebrain of the female rat. *Journal of Comparative Neurology* **386**: 161–177.

- Balbach, L., Wallaschofski, H., Völzke, H., Nauck, M., Dörr, M., Haring, R. (2013). Serum prolactin concentrations as risk factor of metabolic syndrome or type 2 diabetes? *BMC Endocrine Disorders* **13**: 12.
- Bancaud, J., Henriksen, O., Rubio-Donnadieu, F., Seino, M., Dreifuss, F.E., Penry, J.K. (1981). Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* **22**: 489–501.
- Barclay, J., Balaguero, N., Mione, M., Ackerman, S.L., Letts, V.A., Brodbeck, J., Canti, C., Meir, A., Page, K.M., Kusumi, K., Perez-Reyes, E., Lander, E.S., Frankel, W.N., Gardiner, R.M., Dolphin, A.C., Rees, M. (2001). Ducky mouse phenotype of epilepsy and ataxia is associated with mutations in the *Cacna2d2* gene and decreased calcium channel current in cerebellar purkinje cells. *The Journal of Neuroscience* **21**: 6095-6104.
- Bardy, A.H. (1987). Incidence of seizures during pregnancy, labor and puerperium in epileptic women: a prospective study. *Acta Neurologica Scandinavica* **75** 356–360.
- Barman, S., Barrett, K., Boitano, S., Brooks, H. (2013). Hipófisis. En: *Fisiología médica*. McGrawHill Interamericana Editores, pp. 323–337.
- Barragán-Peré, E. (2013). Epilepsia infantil. En: *Epilepsia - Un Punto de Vista Latinoamericano*. Editorial Alfil, pp. 227–262.
- Battin, D.A., Marrs, R.P., Fleiss, P.M., Mishell, D.R.J. (1985). Effect of suckling on serum prolactin, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and estradiol during prolonged lactation. *Obstetrics and Gynecology* **65**: 785–788.
- Battino, D., Tomson, T., Bonizzoni, E., Craig, J., Lindhout, D., Sabers, A., Perucca, E., Vajda, F., EURAP Study Group (2013). Seizure control and treatment changes in pregnancy: Observations from the EURAP epilepsy pregnancy registry. *Epilepsia* **54**: 1621–1627.
- Benítez, J., Holmgren, B., Eguibar, J.R., Roncagliolo, M. (1997). Multimodal sensory evoked potentials in a rat model of demyelinating diseases. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **103**: 189-189.
- Ben-Jonathan, N., LaPensee, C.R., LaPensee, E.W. (2008). What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocrine Reviews* **29**: 1–41.
- Berger, H. (1938). Das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Nova Acta Leopoldina* **6**: 173–309.
- Bernard, V., Young, J., Binart, N., (2019). Prolactin — a pleiotropic factor in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology* **15**: 356–365.
- Bernichtein, S., Touraine, P., Goffin, V. (2010). New concepts in prolactin biology. *The Journal of Endocrinology* **206**: 1–11.
- Bertani, S., Carboni, L., Criado, A., Michielin, F., Mangiarini, L., Vicentini, E. (2010). Circadian profile of peripheral hormone levels in Sprague-Dawley rats and in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *In Vivo - International Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research* **24** 827–836.
- Berzaghi, M.D.P.P., Amado, D., Cavalheiro, E.A. (1987). Pregnancy decreases the frequency of spontaneous recurrent seizures in rats with kainic acid lesions of the hippocampus. *Epilepsy Research* **1**: 142–144.
- Bhatavdekar, J., Patel, D., Ghosh, N., Vora, H., Shah, N., Karelia, N., Balar, D., Chikhlikar, P., Dave, R. (1994). Interrelationship of prolactin and its receptor

- in carcinoma of colon and rectum: a preliminary report. *Journal of Surgical Oncology* **55**: 246–249.
- Bilo, L., Meo, R., Striano, S. (1988). Serum prolactin evaluation after “minor” generalised seizures monitored by EEG. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* **51**: 308–309.
- Black, J.A., Fjell, J., Dib-Hajj, S., Duncan, I.D., O’Connor, L.T., Fried, K., Gladwell, Z., Tate, S., Waxman, S.G. (1999). Abnormal expression of SNS/PN3 sodium channel in cerebellar Purkinje cells following loss of myelin in the *taiep* rat. *NeuroReport* **10**: 913–918.
- Blanco-Hernández, D.M.R., Lima-González, V., Hernández-Juárez, G.F., Quezada-García, A.R. (2008). Frecuencia de crisis epilépticas en pacientes pediátricos de la consulta externa de un hospital general. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México* **65**: 186–190.
- Blumenfeld, H. (2005). Cellular and network mechanisms of spike-wave seizures. *Epilepsia* **46**: 21–33.
- Bole-Feyso, C., Edery, M., Binart, N., Goffin, V., Kelly, P.A. (1998). Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews* **19**: 225–268.
- Bonansco, C., Fuenzalida, M., Olivares, V., Molina, C., Roncagliolo, M., (2007). Asynchronous transmission in the CA3–CA1 hippocampal synapses in the neurological mutant *taiep* rat. *Journal of Neuroscience Research* **85**: 223–229.
- Bonansco, C., Fuenzalida, M., Roncagliolo, M. (2004). Altered synaptic and electrical properties of lumbar motoneurons in the neurological glial mutant *taiep* rat. *Experimental Brain Research* **156**, 104–110.
- Bouwman, B.M., Suffczynski, P., Lopes da Silva, F.H., Maris, E., van Rijn, C.M. (2007a). GABAergic mechanisms in absence epilepsy: a computational model of absence epilepsy simulating spike and wave discharges after vigabatrin in WAG/Rij rats. *The European Journal of Neuroscience* **25**: 2783–2790.
- Bouwman, B.M., Suffczynski, P., Midzyanovskaya, I.S., Maris, E., van den Broek, P.L.C., van Rijn, C.M. (2007b). The effects of vigabatrin on spike and wave discharges in WAG/Rij rats. *Epilepsy Research* **76**: 34–40.
- Bridges, R.S., Ronsheim, P.M. (1990). Prolactin (PRL) regulation of maternal behavior in rats: bromocriptine treatment delays and PRL promotes the rapid onset of behavior. *Endocrinology* **126**: 837–848.
- Brigo, F., Trinka, E., Lattanzi, S., Bragazzi, N.L., Nardone, R., Martini, M. (2018). A brief history of typical absence seizures - Petit mal revisited. *Epilepsy & Behavior* **80**: 346–353.
- Brooks, C.L. 2012. Molecular mechanisms of prolactin and its receptor. *Endocrine Reviews* **33**: 504–525.
- Brown, R.S.E., Grattan, D.R., Herbison, A.E., Piet, R. (2012). Differential actions of prolactin on electrical activity and intracellular signal transduction in hypothalamic neurons. *Endocrinology* **153**: 2375–2384.
- Budziszewska, B., Van Luijckelaar, G., Coenen, A., Leśkiewicz, M., Lasoń, W. (1999). Effects of neurosteroids on spike-wave discharges in the genetic epileptic WAG/Rij rat. *Epilepsy Research* **33**: 23–29.

- Burgess, D.L., Jones, J.M., Meisler, M.H., Noebels, J.L. (1997). Mutation of the Ca²⁺ channel β subunit gene *Cchb4* is associated with ataxia and seizures in the lethargic (lh) mouse. *Cell* **88**: 385–392.
- Burgess, D.L., Noebels, J.L. (1999). Single gene defects in mice: the role of voltage-dependent calcium channels in absence models. *Epilepsy Research* **36**: 111–122.
- Butcher, R.L., Collins, W.E., Fugo, N.W. (1974). Plasma Concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology* **94**: 1704–1708.
- Butcher, R.L., Fugo, N.W., Collins, W.E. (1972). Semicircadian rhythm in plasma levels of prolactin during early gestation in the rat. *Endocrinology* **90**: 1125–1127.
- Butt, A.M. (2012). Structure and function of oligodendrocytes. En: Neuroglia. Edición por Kettenmann, H., Ransom, B.R. Oxford University Press, pp. 62–73.
- Bye, A.M., Nunn, K.P., Wilson, J. (1985). Prolactin and seizure activity. *Archives of Disease in Childhood* **60**: 848–851.
- Cabrera, V., Cantú, D., Ramos, E., Vanoye-Carlo, A., Cerbón, M., Morales, T. (2009). Lactation is a natural model of hippocampus neuroprotection against excitotoxicity. *Neuroscience Letters* **461**: 136–139.
- Cabrera-Reyes, E.A., Limón-Morales, O., Rivero-Segura, N.A., Camacho-Arroyo, I., Cerbón, M. (2017). Prolactin function and putative expression in the brain. *Endocrine* **57**: 199–213.
- Cabrera-Reyes, E.A., Vanoye-Carlo, A., Rodríguez-Dorantes, M., Vázquez-Martínez, E.R., Rivero-Segura, N.A., Collazo-Navarrete, O., Cerbón, M. (2019). Transcriptomic analysis reveals new hippocampal gene networks induced by prolactin. *Scientific Reports* **9**: 1-12.
- Callejas, R.C. (2009). Caracterización electroencefalográfica y farmacológica de las crisis de ausencia en el mutante de mielina *taiep*. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Carney, P.W., Masterton, R.A.J., Harvey, A.S., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Jackson, G.D. (2010). The core network in absence epilepsy. *Neurology* **75**: 904.
- Chang, B.S., Lowenstein, D.H. (2003). Epilepsy. *New England Journal of Medicine* **349**: 1257–1266.
- Chang, S., Copperman, A.B. (2019). New insights into human prolactin pathophysiology: genomics and beyond. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* **31**: 207–211.
- Chen, D.K., So, Y.T., Fisher, R.S. (2005). Use of serum prolactin in diagnosing epileptic seizures. *Neurology* **65**: 668-675.
- Clapp, C., Aranda, J., González, C., Jeziorski, M.C., de la Escalera, G.M. (2006a). Vasoinhibins: endogenous regulators of angiogenesis and vascular function. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **17**: 301–307.
- Clemens, J.A., Meites, J. (1968). Inhibition by hypothalamic prolactin implants of prolactin secretion, mammary growth and luteal function. *Endocrinology* **82**: 878–881.
- Clemens, J.A., Sawyer, B.D., (1974). Identification of prolactin in cerebrospinal fluid. *Experimental Brain Research* **21**: 399–402.

- Clemens, J.A., Shaar, C.J., Kleber, J.W., Tandy, W.A. (1971). Reciprocal control by the preoptic area of LH and prolactin. *Experimental Brain Research* **12**: 250–253.
- Coenen, A., van Luijtelaar, G. (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behavior Genetics* **33**: 635–655.
- Coenen, A., van Luijtelaar, G., (1987). The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Research* **1**: 297–301.
- Cohen, H., Sabbagh, I., Guillaumot, P. (1993). Characterization of a prolactin binding protein in rat serum. *Endocrinology* **132**: 2601–2606.
- Colao, A., Vitale, G., Di Sarno, A., Spiezia, S., Guerra, E., Ciccarelli, A., Lombardi, G. (2004). Prolactin and prostate hypertrophy: a pilot observational, prospective, case-control study in men with prolactinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **89**: 2770–2775.
- Conde-Pérez, Y.A., Díaz-González, D., Conde-Pérez, M., Navia-Reyes, I. de la C., Conde-Fernández, B.D. (2013). Epidemiología clínica de la epilepsia en la población adulta del municipio Sancti Spíritus. *Gaceta Médica Espirituana* **15**: 138–148.
- Cora, M.C., Kooistra, L., Travlos, G. (2015). Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic Pathology* **43**: 776–793.
- Corona, J.E. (2012). Caracterización de las crisis de ausencia en la rata *taiep* bajo la administración de ácido valproico y lamotrigina. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Cortés, C. (2012). Estudio electroencefalográfico de los episodios de inmovilidad en la rata *taiep*: papel del sistema colinérgico. Tesis de Doctorado en Ciencias Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Cortés, C., Gavito, B., Ita, M.L., Valencia, J., Eguibar, J.R. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on *taiep* rats. *Synapse* **58**: 95–101.
- Cortez, M.A., McKerlie, C., Snead, O.C. (2001). A model of atypical absence seizures. *Neurology* **56**: 341.
- Cortez, M.A., Snead III, O.C. (2005). Pharmacologic models of generalized absence seizures in rodents. En: *Models of seizures and epilepsy*. Edición por: Pitkänen, A., Schwartzkroin, P.A., Moshé, S.L. Academic Press, pp. 111–126.
- Costa, A.L.C., Lopes-Cendes, I., Guerreiro, C.A.M. (2005). Seizure frequency during pregnancy and the puerperium. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* **88**: 148–149.
- Costello, L.C., Franklin, R.B. (1994). Effect of prolactin on the prostate. *The Prostate* **24**: 162–166.
- Couve, E., Cabello, J.F., Krsulovic, J., Roncagliolo, M. (1997). Binding of microtubules to transitional elements in oligodendrocytes of the myelin mutant *taiep* Rat. *Journal of Neuroscience Research* **47**: 573–581.
- Cservenák, M., Szabó, É.R., Bodnár, I., Lékó, A., Palkovits, M., Nagy, G.M., Usdin, T.B., Dobolyi, A. (2013). Thalamic neuropeptide mediating the effects of

- nursing on lactation and maternal motivation. *Psychoneuroendocrinology* **38**: 3070–3084.
- Curlewis, J.D., Loudon, A.S.I., Milne, J.A., McNeilly, A.S. (1988). Effects of chronic long-acting bromocriptine treatment on liveweight, voluntary food intake, coat growth and breeding season in non-pregnant red deer hinds. *Journal of Endocrinology* **119**: 413–420.
- D'Amore, V., Santolini, I., Celli, R., Lionetto, L., De Fusco, A., Simmaco, M., van Rijn, C.M., Vieira, E., Stauffer, S.R., Conn, P.J., Bosco, P., Nicoletti, F., van Luijtelaar, G., Ngomba, R.T. (2014). Head-to head comparison of mGlu1 and mGlu5 receptor activation in chronic treatment of absence epilepsy in WAG/Rij rats. *Neuropharmacology* **85**: 91–103.
- Dana-Haeri, J., Trimble, M.R., Oxley, J. (1983). Prolactin and gonadotrophin changes following generalised and partial seizures. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* **46**: 331–335.
- de Souza, E.A.P., da Costa, A.L.C., Guerreiro, C.A.M. (2008). Clinical and psychological aspects of pregnancy in women with epilepsy. En: *Epilepsy Research Progress*. Edición por Takahashi, K. Nova Science Publishers, pp. 55–77.
- Dekkers, O.M., Ehrenstein, V., Bengtsen, M., Farkas, D.K., Pereira, A.M., Sørensen, H.T., Jørgensen, J.O.L. (2015). Breast cancer risk in hyperprolactinemia: a population-based cohort study and meta-analysis of the literature. *European Journal of Endocrinology* **173**: 269–273.
- Depaulis, A., Charpier, S. (2018). Pathophysiology of absence epilepsy: Insights from genetic models. *Neuroscience Letters* **667**: 53–65.
- Depaulis, A., David, O., Charpier, S. (2016). The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *Journal of Neuroscience Methods* **260**: 159–174.
- Depaulis, A., van Luijtelaar, G. (2005). Genetic models of absence epilepsy in the rat. En: *Models of seizures and epilepsy*. Edición por: Pitkänen, A., Schwartzkroin, P.A., Moshé, S.L. Academic Press, pp. 233–248.
- Destexhe, A., Sejnowski, T.J. (2003). Interactions between membrane conductances underlying thalamocortical slow-wave oscillations. *Physiological Reviews* **83**: 1401–1453.
- DeVito, W.J., Stone, S., Shamgochian, M. (1995). Prolactin induced expression of glial fibrillary acidic protein and tumor necrosis factor-alpha at a wound site in the rat brain. *Molecular and Cellular Endocrinology* **108**: 125–130.
- Di Carlo, R., Muccioli, G., Papotti, M., Bussolati, G. (1992). Characterization of prolactin receptor in human brain and choroid plexus. *Brain Research* **570**: 341–346.
- Diri, H., Karaca, Z., Tanriverdi, F., Unluhizarci, K., Kelestimur, F. (2016). Sheehan's syndrome: new insights into an old disease. *Endocrine* **51**: 22–31.
- Dobolyi, A., Oláh, S., Keller, D., Kumari, R., Fazekas, E.A., Csikós, V., Renner, É., Cservenák, M. (2020). Secretion and function of pituitary prolactin in evolutionary perspective. *Frontiers in Neuroscience* **14**: 1-16.

- Donner, N., Bredewold, R., Maloumby, R., Neumann, I.D. (2007). Chronic intracerebral prolactin attenuates neuronal stress circuitries in virgin rats. *The European Journal of Neuroscience* **25**: 1804–1814.
- Donner, N., Neumann, I.D. (2009). Effects of chronic intracerebral prolactin on the oxytocinergic and vasopressinergic system of virgin ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* **90**: 315–322.
- Doretto, M.C., Oliveira-e-Silva, M., Ferreira-Alves, D.L., Pires, S.G., Garcia-Cairasco, N., Reis, A.M. (2003). Effect of lactation on the expression of audiogenic seizures: association with plasma prolactin profiles. *Epilepsy Research* **54**: 109–121.
- Duncan, I.D., Lunn, K.F., Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Brignolo-Holmes, L. (1992). The *taiep* rat: a myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *Journal of Neurocytology* **21**: 870–884.
- Durá-Travé, T., Yoldi-Petri, M.E. (2007). Epilepsy in children in Navarre, Spain: epileptic seizure types and epileptic syndromes. *Journal of Child Neurology* **22**: 823–828.
- Durá-Travé, T., Yoldi-Petri, M.E. (2006). Ausencias típicas: características epidemiológicas, clínicas y evolutivas. *Anales de Pediatría* **64**: 28–33.
- Duvilanski, B.H., Alvarez, M.P., Castrillón, P.O., Cano, P., Esquifino, A.I. (2003). Daily changes of GABA and taurine concentrations in various hypothalamic areas are affected by chronic hyperprolactinemia. *Chronobiology International* **20**: 271–284.
- Duvilanski, B.H., Seilicovich, A., Carmen Diaz, M. del, Lasaga, M., Debeljuk, L. (1987). The effect of prolactin on glutamate decarboxylase activity and GABA concentration in hypothalamic slices. *Psychoneuroendocrinology* **12**: 107–116.
- Eguibar, J.R., Cortés, C. (2010a). Modelos de crisis de ausencia en roedores. *Gaceta Médica de México* **146**: 332-338.
- Eguibar, J.R., Cortés, C. (2010b). El mutante de mielina *taiep* como un modelo de crisis de ausencia. *Gaceta Médica de México* **146**: 11–18.
- Eguibar, J.R., Cortés, C., Ugarte, A., León-Chavez, A. (2014). The myelin mutant rat *taiep* as a model of neuroimmunological disease. *Advances in Neuroimmune Biology* **5**: 9–17.
- Fahie-Wilson, M.N., John, R., Ellis, A.R. (2005). Macroprolactin; high molecular mass forms of circulating prolactin. *Annals of Clinical Biochemistry* **42**: 175–192.
- Felman, K., Tappaz, M. (1989). GABAergic biochemical parameters of the tuberoinfundibular neurons following chronic hyperprolactinemia. *Neuroendocrinology* **49**: 580–585.
- Ferreira, C., Poretti, A., Cohen, J., Hamosh, A., Naidu, S. (2014). Novel TUBB4A mutations and expansion of the neuroimaging phenotype of hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC). *American Journal of Medical Genetics Part A* **164**: 1802–1807.
- Ferry, B., Gervasoni, D., Vogt, C. (2014). Preparation of the stereotaxic surgical procedure. En: *Stereotaxic neurosurgery in laboratory rodent*. Springer, pp. 87–132.

- Festing, M.F.W. (1979). Inbred strains of rats. En: *Inbred strains in biomedical research*. The Macmillan Press, pp. 267–296.
- Fisher, R.S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J.H., Elger, C.E., Engel Jr, J., Forsgren, L., French, J.A., Glynn, M., Hesdorffer, D.C., Lee, B.I., Mathern, G.W., Moshé, S.L., Perucca, E., Scheffer, I.E., Tomson, T., Watanabe, M., Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* **55**: 475–482.
- Fisher, R.S., Boas, W. van E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., Engel Jr., J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* **46**: 470–472.
- Fisher, R.S., Cross, J.H., French, J.A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F.E., Lagae, L., Moshé, S.L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I.E., Zuberi, S.M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: position paper of the ILAE commission for classification and terminology. *Epilepsia* **58**: 522–530.
- Fletcher, C.F., Lutz, C.M., O’Sullivan, T.N., Shaughnessy, J.D., Jr., Hawkes, R., Frankel, W.N., Copeland, N.G., Jenkins, N.A. (1996). Absence epilepsy in tottering mutant mice is associated with calcium channel defects. *Cell* **87**: 607–617.
- Foote, A.K., Blakemore, W.F., 2005. Inflammation stimulates remyelination in areas of chronic demyelination. *Brain* **128**: 528–539.
- Forsgren, L., Bucht, G., Eriksson, S., Bergmark, L. (1996). Incidence and clinical characterization of unprovoked seizures in adults: a prospective population-based study. *Epilepsia* **37**: 224–229.
- Frantz, A.G. (1978). Prolactin. *New England Journal of Medicine* **298**: 201–207.
- Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A., Nagy, G. (2000). Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiological Reviews* **80**: 1523–1631.
- Fuenzalida, M., Aliaga, E., Olivares, V., Roncagliolo, M., Bonansco, C. (2009). Developmental increase of asynchronous glutamate release from hippocampal synapses in mutant *taiep* rat. *Synapse* **63**: 502–509.
- Fuenzalida, M., Roncagliolo, P., Bonansco, C., Roncagliolo, M. (2004). Immature developmental pattern of the monosynaptic reflex in isolated spinal cord of glial mutant *taiep* rats. *Developmental Brain Research* **153**: 197–202.
- Fukuda, A., Mori, C., Hashimoto, H., Noda, Y., Mori, T., Hoshino, K. (1989). Effects of prolactin during preincubation of mouse spermatozoa on fertilizing capacity in vitro. *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer* **6**: 92–97.
- Gardner, D.G., Shoback, D. (2012). Hipotálamo y glándula Hipófisis, En: *Endocrinología básica y clínica*. McGrawHill Interamericana Editores, pp. 65–114.
- Gardner, E.P., Johnson, K.O. (2013). The somatosensory system: receptors and central pathways. En: *Principles of neural science*. Edición por: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., Siegelbaum, S.A., Hudspeth, A.J. McGrawHill Interamericana Editores, Estados Unidos de América, pp. 475–497.
- Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortes, C., Eguibar, J.R., Pantano, S., Hernandez, V.H. (2020). MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Frontiers in Neuroscience* **14**: 1-12.

- Gastaut, H., Gastaut, J.L., Silva, G.E.G. e., Sanchez, G.R.F. (1975). Relative frequency of different types of epilepsy: a study employing the classification of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* **16**: 457–461.
- Gibbs, F.A., Davis, H., Lennox, W.G. (1935). The electroencephalogram in epilepsy and in conditions of impaired consciousness. *Archives of Neurology & Psychiatry* **34**: 1133–1248.
- Glauser, T.A., Cnaan, A., Shinnar, S., Hirtz, D.G., Dlugos, D., Masur, D., Clark, P.O., Capparelli, E.V., Adamson, P.C. (2010). Ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy. *New England Journal of Medicine* **362**: 790–799.
- Godschalk, M., Dzolijic, M.R., Bonta, I.L. (1976). Antagonism of gamma-hidroxybutyrate-induced hypersynchronization in the ECoG of the rat by antipetit mal drugs. *Neuroscience Letters* **3**: 145–150.
- Gottschalk, A., Smith, D.S. (2001). New concepts in acute pain therapy: preemptive analgesia. *American Family Physician* **63**: 1979–1985.
- Grados, E. (2019). Papel de las hormonas esteroides sexuales en las crisis de ausencia en ratas mutantes de mielina *taiep*. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Grattan, D.R., Le Tissier, P. (2015). Hypothalamic control of prolactin secretion, and the multiple reproductive functions of prolactin. En: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Edición por: Plant, T.M., Zeleznik, A.J. Academic Press, pp. 469–526.
- Grattan, D.R. (2015). 60 years of neuroendocrinology: The hypothalamo-prolactin axis. *The Journal of Endocrinology* **226**: 101-122.
- Grattan, D.R. (2002). Behavioural significance of prolactin signalling in the central nervous system during pregnancy and lactation. *Reproduction* **123**: 497–506.
- Grattan, D.R., Szawka, R.E. (2019). Kisspeptin and prolactin. *Seminars in Reproductive Medicine* **37**: 93–104.
- Gregerson, K.A. (2006). Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. En: *Knobil and Neill's physiology of reproduction*,. Academic Press, pp. 1703–1726.
- Guilhoto, L.M. (2017). Absence epilepsy: Continuum of clinical presentation and epigenetics? *Seizure* **44**: 53–57.
- Gurbanova, A.A., Aker, R., Berkman, K., Onat, F.Y., van Rijn, C.M., van Luijtelaaar, G. (2006). Effect of systemic and intracortical administration of phenytoin in two genetic models of absence epilepsy. *British Journal of Pharmacology* **148**: 1076–1082.
- Gustafson, P., Bunn, S.J., Grattan, D.R. (2017a). The role of prolactin in the suppression of Crh mRNA expression during pregnancy and lactation in the mouse. *Journal of Neuroendocrinology* **29**: e12511.
- Gustafson, P., Kokay, I., Sapsford, T., Bunn, S., Grattan, D.R. (2017b). Prolactin regulation of the HPA axis is not mediated by a direct action upon CRH neurons: evidence from the rat and mouse. *Brain Structure and Function* **222**: 3191–3204.
- Hamilton, E.M., Polder, E., Vanderver, A., Naidu, S., Schiffmann, R., Fisher, K., Raguž, A.B., Blumkin, L., H-ABC Research Group, van Berkel, C.G.M., Waisfisz, Q., Simons, C., Taft, R.J., Abbink, T.E.M., Wolf, N.I., van der Knaap,

- M.S. (2014). Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum: further delineation of the phenotype and genotype-phenotype correlation. *Brain: A Journal of Neurology* **137**: 1921–1930.
- Hauser, W.A. (1992). Seizure disorders: the changes with age. *Epilepsia* **33**: 6–14.
- Hauser, W.A., Annegers, J.F., Kurland, L.T. (1993). Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935–1984. *Epilepsia* **34**: 453–458.
- Hauser, W.A., Annegers, J.F., Kurland, L.T. (1991). Prevalence of epilepsy in Rochester, Minnesota: 1940–1980. *Epilepsia* **32**: 429–445.
- Haynes, S., Bennet, T.L. (1992). The nature of epilepsy: historical perspective and overview. En: *The neuropsychology of epilepsy*. Edición por: Bennet, T.L. Springer, pp. 3–15.
- Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L., C Vega-SaenzdeMiera, E. (1989). Sprague-Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Laboratory Animal Science* **39**: 226–228.
- Horseman, N.D., Gregerson, K.A. (2016). Prolactin. En: *Endocrinology: adult and pediatric*. W.B. Saunders, pp. 91–103.
- Huttner, H.B., Kiphuth, I.-C., Teuber, L., Lücking, H., Kloska, S.P., Staykov, D., Kuramatsu, J.B., Mauer, C., Breuer, L., Doerfler, A., Köhrmann, M. (2013). Neuroendocrine changes in patients with spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage. *Neurocritical Care* **18**: 39–44.
- Ibarra, J.M. (2018). Participación del sistema GABAérgico en las crisis de ausencia en ratas *taiep* macho adultas. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Idris, A.I. (2011). Ovariectomy/orchidectomy in rodents. En: *Bone Research Protocols*. Humana Press, pp. 545–551.
- Ignacak, A., Kasztelnik, M., Sliwa, T., Korbut, R., Rajda, K., Guzik, T. (2012). Prolactin - not only lactotrophin a “new” view of the “old” hormone. *Journal of Physiology and Pharmacology* **63**: 435–443.
- Isaksson, I.-M., Theodorsson, A., Theodorsson, E., Strom, J.O. (2011). Methods for 17β -oestradiol administration to rats. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* **71**: 583–592.
- Jallon, P., Latour, P. (2005). Epidemiology of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia* **46**: 10–14.
- Jando, G., Carpi, D., Kandel, A., Urioste, R., Horvath, Z., Pierre, E., Vadi, D., Vadasz, C., Buzsa, G. (1995). Spike-and-wave epilepsy in rats: sex differences and inheritance of physiological traits. *Neuroscience* **64**: 301–317.
- Jarre, G., Guillemain, I., Deransart, C., Depaulis, A. (2017). Genetic models of absence epilepsy in rats and mice. En: *Models of seizures and epilepsy*. Edición por Pitkänen, A., Buckmaster, P.S., Galanopoulou, A.S., Moshé, S.L. Academic Press, pp. 455–471.
- Jasper, H.H., Droogleever-Fortuyn, J. (1946). Experimental studies on the functional anatomy of petit mal epilepsy. *Research of Public Assessment and Research of Nerves and Mental Disorder* **26**: 272–298.
- Johns, P. (2014). Epilepsy. En: *Clinical Neuroscience*. Elsevier, pp. 129–144.

- Jung, R., Berger, W. (1979). Hans Bergers Entdeckung des Elektrenkephalogramms und seine ersten Befunde 1924–1931. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* **227**: 279–300.
- Kalsi, A.K., Halder, A., Jain, M., Chaturvedi, P.K., Sharma, J.B. (2019). Prevalence and reproductive manifestations of macroprolactinemia. *Endocrine* **63**: 332–340. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1770-6>
- Kantheti, P., Diaz, M.E., Peden, A.E., Seong, E.E., Dolan, D.F., Robinson, M.S., Noebels, J.L., Burmeister, M.L. (2003). Genetic and phenotypic analysis of the mouse mutant mh2J, an Ap3d allele caused by IAP element insertion. *Mammalian Genome* **14**: 157–167.
- Kaupilla, A., Chatelain, P., Kirkinen, P., Kivinen, S., Ruokonen, A. (1987). Isolated prolactin deficiency in a woman with puerperal alactogenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **64**: 309–312.
- Kessler, S.K., Shinnar, S., Cnaan, A., Dlugos, D., Conry, J., Hirtz, D.G., Hu, F., Liu, C., Mizrahi, E.M., Moshé, S.L., Clark, P., Glauser, T.A., Childhood Absence Epilepsy Study Group. (2017). Pretreatment seizure semiology in childhood absence epilepsy. *Neurology* **89**: 673–679.
- Khosravani, H., Zamponi, G.W. (2006). Voltage-gated calcium channels and idiopathic generalized epilepsies. *Physiological Reviews* **86**: 941–966.
- Klein, J.P., Khera, D.S., Nersesyan, H., Kimchi, E.Y., Waxman, S.G., Blumenfeld, H. (2004). Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain Research* **1000**: 102–109.
- Kline, J.B., Clevenger, C.V. (2001). Identification and characterization of the prolactin-binding protein in human serum and milk. *The Journal of Biological Chemistry* **276**: 24760–24766.
- Kostopoulos, G.K. (2017). Pharmacologically induced animal models of absence seizures. En: *Models of seizures and epilepsy*. Edición por: Pitkänen, A., Buckmaster, P.S., Galanopoulou, A.S., Moshé, S.L. Academic Press, pp. 553–567.
- Kostopoulos, G.K. (2001). Involvement of the thalamocortical system in epileptic loss of consciousness. *Epilepsia* **42**: 13–19.
- Kostopoulos, G.K. (2000). Spike-and-wave discharges of absence seizures as a transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis. *Clinical Neurophysiology* **111**: S27–S38.
- Kovács, Z., Lakatos, R.K., Barna, J., Dobolyi, Á. (2017). Absence epileptic activity in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rat mothers. *Brain Research* **1657**: 368–376.
- Krsulovic, J., Couve, E., Roncagliolo, M. (1999). Dysmyelination, demyelination and reactive astrogliosis in the optic nerve of the *taiap* rat. *Biological Research* **32**: 253–262.
- La Neve, A., Boero, G., Francavilla, T., Plantamura, M., De Agazio, G., Specchio, L.M. (2015). Prospective, case-control study on the effect of pregnancy on seizure frequency in women with epilepsy. *Neurological Sciences* **36**: 79–83.
- Labriola, L., Montor, W.R., Krogh, K., Lojudice, F.H., Genzini, T., Goldberg, A.C., Eliaschewitz, F.G., Sogayar, M.C. (2007). Beneficial effects of prolactin and laminin on human pancreatic islet-cell cultures. *Molecular and Cellular Endocrinology* **263**: 120–133.

- Lai, Z., Roos, P., Olsson, Y., Larsson, C., Nyberg, F. (1992). Characterization of prolactin receptors in human choroid plexus. *Neuroendocrinology* **56**: 225–233.
- Landas, S., Thompson, S.A., Lewis, R., Stamler, J.F., Raizada, M.K., Phillips, M.I. (1982). Uptake of prolactin from cerebrospinal fluid in rat brain. *Neuropeptides* **3**: 173–179.
- Langer-Gould, A., Huang, S.M., Gupta, R., Leimpeter, A.D., Greenwood, E., Albers, K.B., Van Den Eeden, S.K., Nelson, L.M. (2009). Exclusive breastfeeding and the risk of postpartum relapses in women with multiple sclerosis. *Archives of Neurology* **66**: 958–963.
- Lavados, J., Germain, L., Morales, A., Campero, M., Lavados, P. (1992). A descriptive study of epilepsy in the district of El Salvador, Chile, 1984–1988. *Acta Neurologica Scandinavica* **85**: 249–256.
- Leandro-García, L.J., Leskelä, S., Landa, I., Montero-Conde, C., López-Jiménez, E., Letón, R., Cascón, A., Robledo, M., Rodríguez-Antona, C. (2010). Tumoral and tissue-specific expression of the major human β -tubulin isotypes. *Cytoskeleton* **67**: 214–223.
- León-Chavez, B.A., Gonzalez-Barríos, J.A., Ugarte, A., Meraz, M.A., Martínez-Fong, D. (2003). Evidence in vitro of glial cell priming in the *taiep* rat. *Brain Research* **965**: 274–278.
- León-Chavez, B.A., Guevara, J., Galindo, S., Luna, J., Ugarte, A., Villegas, O., Mena, R., Eguibar, J.R., Martínez-Fong, D. (2001). Regional and temporal progression of reactive astrogliosis in the brain of the myelin mutant *taiep* rat. *Brain Research* **900**: 152–155.
- Letts, V.A., Beyer, B.J., Frankel, W.N. (2014). Hidden in plain sight: spike-wave discharges in mouse inbred strains. *Genes, Brain and Behavior* **13**: 519–526.
- Lewis, U.J., Singh, R.N.P., Seavey, B.K. (1971). Human prolactin: isolation and some properties. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **44**: 1169–1176.
- Li, C., Chen, P., Smith, M.S. (1999). Neural populations in the rat forebrain and brainstem activated by the suckling stimulus as demonstrated by cFos expression. *Neuroscience* **94**: 117–129.
- Lingle, C., Sombati, S., Freeman, M. (1986). Membrane currents in identified lactotrophs of rat anterior pituitary. *The Journal of Neuroscience* **6**: 2995–3005.
- Liu, Y., Hyde, J.F., Vore, M. (1992). Prolactin regulates maternal bile secretory function postpartum. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **261**: 560–566.
- Liu, Z., Vergnes, M., Depaulis, A., Marescaux, C. (1991). Evidence for a critical role of GABAergic transmission within the thalamus in the genesis and control of absence seizures in the rat. *Brain Research* **545**: 1–7.
- Locatelli, V., Apud, J.A., Gudelsky, G.A., Cocchi, D., Masotto, C., Casanueva, F., Racagni, G., Müller, E.E. (1985). Prolactin in cerebrospinal fluid increases the synthesis and release of hypothalamic γ -aminobutyric acid. *Journal of Endocrinology* **106**: 323–328.
- Loggin, I.S., MacLeod, R.M. (1977). Prolactin in human and rat serum and cerebrospinal fluid. *Brain Research* **132**: 477–483.

- Lopez-Juarez, A., Gonzalez-Vega, A., Kleinert-Altamirano, A., Piazza, V., Garduno-Robles, A., Alata, M., Villaseñor-Mora, C., Eguibar, J.R., Cortes, C., Padierna, L.C., Hernandez, V.H. (2020). Auditory impairment in H-ABC tubulinopathy. *Journal of Comparative Neurology* **529**: 957–968.
- Lunn, K.F., Clayton, M.K., Duncan, I.D. (1997). The temporal progression of the myelination defect in the *taiep* rat. *Journal of Neurocytology* **26**: 267–281.
- Lüttjohann, A., van Luijtelaar, G. (2015). Dynamics of networks during absence seizure's on- and offset in rodents and man. *Frontiers in Physiology* **6**: 16.
- Lüttjohann, A., van Luijtelaar, G. (2012). The dynamics of cortico-thalamo-cortical interactions at the transition from pre-ictal to ictal LFPs in absence epilepsy. *Neurobiology of Disease* **47**: 49–60.
- Lüttjohann, A., Zhang, S., de Peijper, R., van Luijtelaar, G. (2011). Electrical stimulation of the epileptic focus in absence epileptic WAG/Rij rats: assessment of local and network excitability. *Neuroscience* **188**: 125–134.
- Lyons, D.J., Hellysaz, A., Broberger, C. (2012). Prolactin regulates tuberoinfundibular dopamine neuron discharge pattern: novel feedback control mechanisms in the lactotrophic axis. *The Journal of Neuroscience* **32**: 8074–8083.
- Ma, F.Y., Grattan, D.R., Goffin, V., Bunn, S.J. (2005). Prolactin-regulated tyrosine hydroxylase activity and messenger ribonucleic acid expression in mediobasal hypothalamic cultures: the differential role of specific protein kinases. *Endocrinology* **146**: 93–102.
- Macotela, Y., Triebel, J., Clapp, C. (2020). Time for a new perspective on prolactin in metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism* **31**: 276–286.
- Magiorkinis, E., Sidiropoulou, K., Diamantis, A. (2010). Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. *Epilepsy & Behavior* **17**: 103–108.
- Mainoya, J.R., Bern, H.A., Regan, J.W. (1974). Influence of ovine prolactin on transport of fluid and sodium chloride by the mammalian intestine and gall bladder. *Journal of Endocrinology* **63**: 311–317.
- Manning, J.-P.A., Richards, D.A., Bowery, N.G. (2003). Pharmacology of absence epilepsy. *Trends in Pharmacological Sciences* **24**: 542–549.
- Manshaei, N., Shakibaei, F., Fazilati, M., Salavati, H., Negahdary, M., Palizban, A. (2019). An investigation of the association between the level of prolactin in serum and type II diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* **13**: 3035–3041.
- Marano, R.J., Ben-Jonathan, N. (2014). Minireview: extrapituitary prolactin: an update on the distribution, regulation, and functions. *Molecular Endocrinology* **28**: 622–633.
- Marcus, E.M., Watson, C. W. (1966). Bilateral synchronous spike wave electrographic patterns in the cat: interaction of bilateral cortical foci in the intact, the bilateral cortical-callosal, and adiencephalic preparation. *JAMA Neurology* **14**: 601–610.
- Marescaux, C., Micheletti, G., Vergnes, M., Depaulis, A., Rumbach, L., Warter, J.M. (1984). A model of chronic spontaneous petit mal-like seizures in the rat: comparison with pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsia* **25**: 326–331.

- Marescaux, C., Vergnes, M., Depaulis, A. (1992). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg - a review. *Journal of Neural Transmission, Generalized non-convulsive epilepsy: focus on GABA-B receptors* **35**: 37–69.
- Markianos, M., Koutsis, G., Evangelopoulos, M.E., Mandellos, D., Sfagos, C. (2010). Serum and cerebrospinal fluid prolactin levels in male and female patients with clinically-isolated syndrome or relapsing-remitting multiple sclerosis. *Journal of Neuroendocrinology* **22**: 503–508.
- Matějovská, I., Velišková, J., Velišek, L. (1998). Bicuculline-induced rhythmic EEG episodes: gender differences and the effects of ethosuximide and baclofen treatment. *Epilepsia* **39**: 1243–1252.
- Matricardi, S., Verrotti, A., Chiarelli, F., Cerminara, C., Curatolo, P. (2014). Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatric Neurology* **50**: 205–212.
- McCormick, D.A., Huguenard, J.R. (1992). A model of the electrophysiological properties of thalamocortical relay neurons. *Journal of Neurophysiology* **68**: 1384–1400.
- McGinty, D., Szymusiak, R. (2017). Neural control of sleep in mammals. En: *Principles and practice of sleep medicine*. Elsevier, pp. 62–77.
- Meeren, H.K.M., Pijn, J.P.M., Van Luijckelaar, E.L.J.M., Coenen, A.M.L., Lopes da Silva, F.H. (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *The Journal of Neuroscience* **22**: 1480.
- Meites, J. (1988). Prolactin. En: *Endocrinology - People and Ideas*. Edición por McCann, S.M. American Physiological Society, pp. 117–147.
- Melmed, S., Jameson, J.L. (2018). Physiology of anterior pituitary hormones. En: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Edición por: Jameson, J.L., Fauci, A.S., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Loscalzo, J. McGrawHill Interamericana Editores, pp. 6495–6508.
- Miao, A., Tang, L., Xiang, J., Guan, Q., Ge, H., Liu, H., Wu, T., Chen, Q., Yang, L., Lu, X., Hu, Z., Wang, X. (2014). Dynamic magnetic source imaging of absence seizure initialization and propagation: a magnetoencephalography study. *Epilepsy Research* **108**: 468–480.
- Millar, R.P., Sonigo, C., Anderson, R.A., George, J., Maione, L., Brailly-Tabard, S., Chanson, P., Binart, N., Young, J. (2017). Hypothalamic-pituitary-ovarian axis reactivation by kisspeptin-10 in hyperprolactinemic women with chronic amenorrhea. *Journal of the Endocrine Society* **1**: 1362–1371.
- Mitra, I. (1980). A novel “cleaved prolactin” in the rat pituitary: part I biosynthesis, characterization, and regulatory control. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **95**: 1750–1759.
- Mödersheim, T.A.E., Gorba, T., Pathipati, P., Kokay, I.C., Grattan, D.R., Williams, C.E., Scheepens, A. (2007). Prolactin is involved in glial responses following a focal injury to the juvenile rat brain. *Neuroscience* **145**: 963–973.
- Moeller, F., Maneshi, M., Pittau, F., Gholipour, T., Bellec, P., Dubeau, F., Grova, C., Gotman, J. (2011). Functional connectivity in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia* **52**: 515–522.
- Molina, P.E., Raff, H., Levitzky, M. (2013). Adenohipófisis. En: *Fisiología médica: Un enfoque por aparatos y sistemas*. McGrawHill Interamericana Editores, pp. 623–632.

- Möller, J.R., Durr, P.G., Quarles, R.H., Duncan, I.D. (1997). Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the *taiep* rat. *Journal of Neurochemistry* **69**: 773–779.
- Moore, B.J., Brasel, J.A. (1984). One cycle of reproduction consisting of pregnancy, lactation or no lactation, and recovery: effects on carcass composition in ad libitum-fed and food-restricted rats. *The Journal of Nutrition* **114**: 1548–1559.
- Morales, T. (2011). Recent findings on neuroprotection against excitotoxicity in the hippocampus of female rats. *Journal of Neuroendocrinology* **23**: 994–1001.
- Morales, T., Lorenson, M., Walker, A.M., Ramos, E. (2014). Both prolactin (PRL) and a molecular mimic of phosphorylated PRL, S179D-PRL, protect the hippocampus of female rats against excitotoxicity. *Neuroscience* **258**: 211–217.
- Moshirzadeh, S., Ghareghozli, K., Harandi, A.A., Pakdaman, H. (2012). Serum prolactin level in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis during relapse. *Journal of Clinical Neuroscience* **19**: 622–623.
- Murata, Y., Colonnese, M.T. (2019). Thalamic inhibitory circuits and network activity development. *Brain Research* **1706**: 13–23.
- Naef, L., Woodside, B. (2007). Prolactin/leptin interactions in the control of food intake in rats. *Endocrinology* **148**: 5977–5983.
- Nahas, N., Conant, A., Hamilton, E., Curiel, J., Simons, C., van der Knaap, M., Vanderver, A. (2016). TUBB4A-Related Leukodystrophy. En: GeneReviews. Edición por: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Stephens, K., Amemiya, A. University of Washington, Seattle, Seattle.
- National Academy of Sciences. (2011). Guide for the care and use of laboratory animals, 8^o Edition. ed. National Academies Press.
- Nicoll, C.S., Bern, H. (1972). On the actions of PRL among the vertebrates: is there a common denominator? En: *Lactogenic Hormones*. Edición por: Wolstenholme, G.E.W., Knight, J. Churchill Livingstone, pp. 299–337.
- Nitkowska, M., Tomasiuk, R., Czyżyk, M., Friedman, A. (2015). Prolactin and sex hormones levels in males with Parkinson's disease. *Acta Neurologica Scandinavica* **131**: 411–416.
- Noebels, J.L. (2017). Spontaneous and gene-directed epilepsy mutations in the mouse. En: Models of seizures and epilepsy. Edición por: Pitkänen, A., Buckmaster, P.S., Galanopoulou, A.S., Moshé, S.L. Academic Press, pp. 763–776.
- Noebels, J.L., Qiao, X., Bronson, R.T., Spencer, C., Davisson, M.T. (1990). Stargazer: a new neurological mutant on chromosome 15 in the mouse with prolonged cortical seizures. *Epilepsy Research* **7**: 129–135.
- Noel, G.L., Suh, H.K., Frantz, A.G. (1974). Prolactin Release During Nursing and Breast Stimulation in Postpartum and Nonpostpartum Subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **38**: 413–423.
- Noel, M.B., Woodside, B. (1993). Effects of systemic and central prolactin injections on food intake, weight gain, and estrous cyclicity in female rats. *Physiology & Behavior* **54**: 151–154.
- Numan, M. (1994). A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. *Acta Paediatrica Supplement* **397**: 19–28.

- O'Connor, L.T., Goetz, B.D., Couve, Eduardo, Song, J., Duncan, I.D. (2000). Intracellular distribution of myelin protein gene products is altered in oligodendrocytes of the *taiep* rat. *Molecular and Cellular Neuroscience* **16**: 394–407.
- Olivecrona, Z., Dahlqvist, P., Koskinen, L.-O.D. (2013). Acute neuro-endocrine profile and prediction of outcome after severe brain injury. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine* **21**: 33.
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *Epilepsia: un imperativo de salud pública*. 1º Edición. Editorial: Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- Ortiz-Pérez, A., Limón-Morales, O., Rojas-Castañeda, J.C., Cerbón, M., Picazo, O. (2019). Prolactin prevents the kainic acid-induced neuronal loss in the rat hippocampus by inducing prolactin receptor and putatively increasing the VGLUT1 overexpression. *Neuroscience Letters* **694**: 116–123.
- Parra, A., Ramírez-Peredo, J., Reyes, E., Hidalgo, R., Macías-Gallardo, J., Lutz-Presno, J., Ruiz-Argüelles, A., Garza, E., Infante, E., Gutiérrez-Aguirre, C.H., Salazar-Riojas, R., Villarreal, J.Z., Gómez-Almaguer, D., Ruiz-Argüelles, G.J. (2012). Moderate hyperprolactinemia is associated with survival in patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Hematology* **17**: 85–92.
- Paut-Pagano, L., Roky, R., Valatx, J.-L., Kitahama, K., Jouvét, M. (1993). Anatomical distribution of prolactin-like immunoreactivity in the rat brain. *Neuroendocrinology* **58**: 682–695.
- Pawluski, J.L., Brummelte, S., Barha, C.K., Crozier, T.M., Galea, L.A.M. (2009). Effects of steroid hormones on neurogenesis in the hippocampus of the adult female rodent during the estrous cycle, pregnancy, lactation and aging. *Frontiers in Neuroendocrinology* **30**: 343–357.
- Paxinos, G., Watson, C. (2013). *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 7º Edición. ed. Academic Press.
- Pazzaglia, P., Frank-Pazzaglia, L. (1976). Record in grade school of pupils with epilepsy: an epidemiological study. *Epilepsia* **17**: 361–366.
- Peloquin, J.B., Khosravani, H., Barr, W., Bladen, C., Evans, R., Mezeyova, J., Parker, D., Snutch, T.P., McRory, J.E., Zamponi, G.W. (2006). Functional analysis of Cav3.2 T-type calcium channel mutations linked to childhood absence epilepsy. *Epilepsia* **47**: 655–658.
- Pennell, P.B., French, J.A., May, R.C., Gerard, E., Kalayjian, L., Penovich, P., Gedzelman, E., Cavitt, J., Hwang, S., Pack, A.M., Sam, M., Miller, J.W., Wilson, S.H., Brown, C., Birnbaum, A.K., Meador, K.J. (2020). Changes in seizure frequency and antiepileptic therapy during pregnancy. *New England Journal of Medicine* **383**: 2547–2556.
- Perescis, M.F.J., van Luijckelaar, G., van Rijn, C.M. (2020). Immediate versus late effects of vigabatrin on spike and wave discharges. *Epilepsy Research* **165**: 106379.
- Persad, V., Cortez, M.A., Carter Snead, O. (2002). A chronic model of atypical absence seizures: studies of developmental and gender sensitivity. *Epilepsy Research* **48**: 111–119.

- Persad, V., Ting Wong, C.G., Cortez, M.A., Wang, Y.T., Snead III, O.C. (2004). Hormonal regulation of atypical absence seizures. *Annals of Neurology* **55**: 353–361.
- Pi, X., Grattan, D.R. (1999). Expression of prolactin receptor mRNA is increased in the preoptic area of lactating rats. *Endocrine* **11**: 91–98.
- Polack, P.-O., Guillemain, I., Hu, E., Deransart, C., Depaulis, A., Charpier, S. (2007). Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *The Journal of Neuroscience* **27**: 6590.
- Porter, R.J., Meldrum, B.S., Katzung, B.G., Trevor, A.J. (2016). Fármacos anticonvulsivos. En: *Farmacología básica y clínica*. McGrawHill Interamericana Editores, pp. 396–420.
- Powe, C.E., Allen, M., Puopolo, K.M., Merewood, A., Worden, S., Johnson, L.C., Fleischman, A., Welt, C.K. (2010). Recombinant human prolactin for the treatment of lactation insufficiency. *Clinical Endocrinology* **73**: 645–653.
- Powell, E., Anch, A.M., Dyche, J., Bloom, C., Richter, R.R. (1999). The splay angle: a new measure for assessing neuromuscular dysfunction in rats. *Physiology & Behavior* **67**: 819–821.
- Prince, D.A., Farrell, D. (1969). “Centrencephalic” spike wave discharges following parenteral penicillin injection in the cat. *Neurology* **19**: 309–310.
- Pritchard, P.B. (1991). The effect of seizures on hormones. *Epilepsia* **32**: S46-50.
- Racagni, G., Apud, J.A., Cocchi, D., Locatelli, V., Iuliano, E., Casanueva, F., Müller, E.E. (1984). Regulation of prolactin secretion during suckling: involvement of the hypothalamo-pituitary GABAergic system. *Journal of Endocrinological Investigation* **7**: 481–487.
- Reyes-Mendoza, J., Morales, T. (2016). Post-treatment with prolactin protects hippocampal CA1 neurons of the ovariectomized female rat against kainic acid-induced neurodegeneration. *Neuroscience* **328**: 58–68.
- Richardson, B.P. (1973). Evidence for a physiological role of prolactin in osmoregulation in the rat after its inhibition by 2-bromo-ergokryptine. *British Journal of Pharmacology* **47**: 623P-624P.
- Riddle, O., Bates, R.W., Dykshorn, S.W. (1933). The preparation, identification and assay of prolactin - A hormone of the anterior pituitary. *American Journal of Physiology* **105**: 191–216.
- Rivero-Segura, N.A., Coronado-Mares, M.I., Rincón-Heredia, R., Pérez-Torres, I., Montiel, T., Pavón, N., Cabrera-Reyes, E.A., Massieu, L., Cerbón, M. (2019). Prolactin prevents mitochondrial dysfunction induced by glutamate excitotoxicity in hippocampal neurons. *Neuroscience Letters* **701**: 58–64.
- Rivero-Segura, N.A., Flores-Soto, E., García de la Cadena, S., Coronado-Mares, I., Gomez-Verjan, J.C., Ferreira, D.G., Cabrera-Reyes, E.A., Lopes, L.V., Massieu, L., Cerbón, M. (2017). Prolactin-induced neuroprotection against glutamate excitotoxicity is mediated by the reduction of [Ca²⁺]_i overload and NF-κB activation. *PLOS ONE* **12**: e0176910.
- Robinson, P.F., Gilmore, S.A. (1980). Spontaneous generalized spike-wave discharges in the electrocorticograms of albino rats. *Brain Research* **201**: 452–458.

- Roky, R., Paut-Pagano, L., Goffin, V., Kitahama, K., Valatx, J.L., Kelly, P.A., Jouvét, M. (1996). Distribution of prolactin receptors in the rat forebrain. Immunohistochemical study. *Neuroendocrinology* **63**: 422–429.
- Roncagliolo, M., Benítez, J., Eguibar, J.R. (2000). Progressive deterioration of central components of auditory brainstem responses during postnatal development of the myelin mutant *taiep* rat. *Audiology & Neuro-otology* **5**: 267–275.
- Roncagliolo, M., Schlageter, C., León, C., Couve, E., Bonansco, C., Eguibar, J.R. (2006). Developmental impairment of compound action potential in the optic nerve of myelin mutant *taiep* rats. *Brain Research* **1067**: 78–84.
- Ropper, A.H., Samuels, M.A. (2011). Epilepsia y otros trastornos convulsivos. En: *Principios de Neurología - Adams y Victor*. McGrawHill Interamericana Editores, pp. 304–338.
- Russo, E., Citraro, R., Constanti, A., Leo, A., Lüttjohann, A., van Luijtelaar, G., De Sarro, G. (2016). Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: Hidden mechanisms and a new theory on seizure development. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **71**: 388–408.
- Sadovsky, E., Weinstein, D., Ben-David, M., Polishuk, W.Z. (1977). Serum prolactin in normal and pathologic pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* **50**, 559–561.
- Saleem, M., Martin, H., Coates, P. (2018). Prolactin biology and laboratory measurement: an update on physiology and current analytical issues. *The Clinical Biochemist. Reviews* **39**: 3–16.
- Sapsford, T.J., Kokay, I.C., Ostberg, L., Bridges, R.S., Grattan, D.R. (2012). Differential sensitivity of specific neuronal populations of the rat hypothalamus to prolactin action. *The Journal of Comparative Neurology* **520**: 1062–1077.
- Sassin, J.F., Frantz, A.G., Weitzman, E.D., Kapen, S. (1972). Human prolactin: 24-hour pattern with increased release during sleep. *Science* **177**: 1205–1207.
- Sauvé, D., Woodside, B. (1996). The effect of central administration of prolactin on food intake in virgin female rats is dose-dependent, occurs in the absence of ovarian hormones and the latency to onset varies with feeding regimen. *Brain Research* **729**: 75–81.
- Savino, W. (2016). Prolactin: an immunomodulator in health and disease. *Frontiers of Hormone Research* **48**: 69–75.
- Schmidt, D., Canger, R., Avanzini, G., Battino, D., Cusi, C., Beck-Mannagetta, G., Koch, S., Rating, D., Janz, D. (1983). Change of seizure frequency in pregnant epileptic women. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* **46**: 751–755.
- Scicchitano, F., van Rijn, C.M., van Luijtelaar, G. (2015). Unilateral and bilateral cortical resection: effects on spike-wave discharges in a genetic absence epilepsy model. *PloS One* **10**: e0133594.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2001). NOM-062-ZOO-1999 - *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. Diario Oficial de la Federación, México.
- Segan, S. (2018). Absence Seizures. Medscape. Recuperado el 02 de febrero de 2021, de <https://reference.medscape.com/article/1183858-overview#a3>.

- Selmanoff, M., Gregerson, K.A. (1985). Suckling decreases dopamine turnover in both medial and lateral aspects of the median eminence in the rat. *Neuroscience Letters* **57**: 25–30.
- Shahla, M., Hijran, B., Sharif, M. (2018). The course of epilepsy and seizure control in pregnant women. *Acta Neurologica Belgica* **118**: 459–464.
- Shi, Q., Zhang, T., Miao, A., Sun, J., Sun, Y., Chen, Q., Hu, Z., Xiang, J., Wang, X. (2020). Differences between interictal and ictal generalized spike-wave discharges in childhood absence epilepsy: a MEG study. *Frontiers in Neurology* **10**: 1359.
- Shingo, T., Gregg, C., Enwere, E., Fujikawa, H., Hassam, R., Geary, C., Cross, J.C., Weiss, S. (2003). Pregnancy-stimulated neurogenesis in the adult female forebrain mediated by prolactin. *Science* **299**: 117.
- Silva-Gómez, A.B., Bravo-Duran, D.A., Eguibar, J.R., Cortes, C. (2018). Juvenile *taiep* rats have shorter dendritic trees in the dorsal field of the hippocampus without spatial learning disabilities. *Synapse* **72**: e22024.
- Simon, R.P., Greenberg, D.A., Aminoff, M.J. (2010). Convulsiones y síncope. En: *Neurología Clínica*. McGrawHill Interamericana Editores, pp. 270–291.
- Simons, C., Wolf, N.I., McNeil, N., Caldovic, L., Devaney, J.M., Takanohashi, A., Crawford, J., Ru, K., Grimmond, S.M., Miller, D., Tonduti, D., Schmidt, J.L., Chudnow, R.S., van Coster, R., Lagae, L., Kisler, J., Sperner, J., van der Knaap, M.S., Schiffmann, R., Taft, R.J., Vanderver, A. (2013). A de novo mutation in the β -tubulin gene TUBB4A results in the leukoencephalopathy hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum. *American Journal of Human Genetics* **92**: 767–773.
- Sirzen-Zelenskaya, A., Gonzalez-Iglesias, A.E., Boutet de Monvel, J., Bertram, R., Freeman, M.E., Gerber, U., Egli, M. (2011). Prolactin induces a hyperpolarising current in rat paraventricular oxytocinergic neurones. *Journal of Neuroendocrinology* **23**: 883–893.
- Song, J., Cao, C., Wang, Y., Yao, S., Catalino, M.P., Yan, D., Xu, G., Ma, L. (2020). Response activation and inhibition in patients with prolactinomas: an electrophysiological study. *Frontiers in Human Neuroscience* **14**: 170.
- Song, J., Carson, J.H., Barbarese, E., Li, F.-Y., Duncan, I.D. (2003). RNA transport in oligodendrocytes from the *taiep* mutant rat. *Molecular and Cellular Neuroscience* **24**: 926–938.
- Song, J., Goetz, B.D., Kirvell, S.L., Butt, A.M., Duncan, I.D. (2001). Selective myelin defects in the anterior medullary velum of the *taiep* mutant rat. *Glia* **33**: 1–11.
- Song, J., O'Connor, L.T., Yu, W., Baas, P.W., Duncan, I.D. (1999). Microtubule alterations in cultured *taiep* rat oligodendrocytes lead to deficits in myelin membrane formation. *Journal of Neurocytology* **28**: 671–683.
- Soto-Pedre, E., Newey, P.J., Bevan, J.S., Leese, G.P. (2017). Morbidity and mortality in patients with hyperprolactinaemia: the PROLEARS study. *Endocrine Connections* **6**: 580–588.
- Soto-Rodriguez, G., Gonzalez-Barrios, J.-A., Martinez-Fong, D., Blanco-Alvarez, V.-M., Eguibar, J.R., Ugarte, A., Martinez-Perez, F., Brambila, E., Peña, L.M.-P., Pazos-Salazar, N.-G., Torres-Soto, M., Garcia-Robles, G., Tomas-Sanchez, C., Leon-Chavez, B.A. (2015). Analysis of chemokines and

- receptors expression profile in the myelin mutant *taiep* rat. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2015**: 397310–397310.
- Stattin, P., Rinaldi, S., Stenman, U.H., Riboli, E., Hallmans, G., Bergh, A., Kaaks, R. (2001). Plasma prolactin and prostate cancer risk: A prospective study. *International Journal of Cancer* **92**: 463–465.
- Stout-Steele, M., Bennett, R.A. (2011). Clinical technique: dorsal ovariectomy in rodents. *Journal of Exotic Pet Medicine, Topics in medicine and surgery* **20**: 222–226.
- Stricker, P., Grueter, R. (1928). Action du lobe antérieur de l'hypophyse sur la montée laiteuse. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie* **99**: 1978–1980.
- Sueri, C., Gasparini, S., Balestrini, S., Labate, A., Gambardella, A., Russo, E., Leo, A., Casarotto, S., Pittau, F., Trimboli, M., Cianci, V., Ascoli, M., Cavalli, S.M., Ferrigno, G., Aguglia, U., Ferlazzo, E. (2018). Diagnostic biomarkers of epilepsy. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **19**: 440–450.
- Sunderam, S., Osorio, I., Frei, M.G. (2007). Epileptic seizures are temporally interdependent under certain conditions. *Epilepsy Research* **76**, 77–84.
- Sysoeva, M.V., Sitnikova, E., Sysoev, I.V., Bezruchko, B.P., van Luijtelaaar, G. (2014). Application of adaptive nonlinear Granger causality: disclosing network changes before and after absence seizure onset in a genetic rat model. *Journal of Neuroscience Methods* **226**: 33–41.
- Tandon, M., Coudriet, G.M., Criscimanna, A., Socorro, M., Eliliwi, M., Singhi, A.D., Cruz-Monserrate, Z., Bailey, P., Lotze, M.T., Zeh, H., Hu, J., Goffin, V., Gittes, G.K., Biankin, A.V., Esni, F. (2019). Prolactin promotes fibrosis and pancreatic cancer progression. *Cancer Research* **79**: 5316–5327.
- Taya, K., Igarashi, M. (1973). Changes in FSH, LH and prolactin secretion during estrous cycle in rats. *Endocrinologia Japonica* **20**: 199–205.
- Tejadilla, D., Cerbón, M., Morales, T. (2010). Prolactin reduces the damaging effects of excitotoxicity in the dorsal hippocampus of the female rat independently of ovarian hormones. *Neuroscience* **169**: 1178–1185.
- Temkin, O. (1994a). Epilepsy: the sacred disease. En: *The falling sickness - A history of epilepsy from Greeks to the beginnings of modern neurology*. The John Hopkins University Press, pp. 3–81.
- Temkin, O. (1994b). John Hughlings Jackson. En: *The falling sickness - A history of epilepsy from Greeks to the beginnings of modern neurology*. The John Hopkins University Press, pp. 328–346.
- Terada, N., Kidd, G.J., Kinter, M., Bjartmar, C., Moran-Jones, K., Trapp, B.D. (2005). Beta IV tubulin is selectively expressed by oligodendrocytes in the central nervous system. *Glia* **50**: 212–222.
- Therkelsen, K.E., Abraham, T.M., Pedley, A., Massaro, J.M., Sutherland, P., Hoffmann, U., Fox, C.S. (2016). Association between prolactin and incidence of cardiovascular risk factors in the Framingham heart study. *Journal of the American Heart Association* **5**: e002640.
- Tolmacheva, E.A., Chepurnov, S.A., Chepurnova, N.E., Kochetkov, Y.A., van Luijtelaaar, G. (2004). Absence seizures during pregnancy in WAG/Rij rats. *Physiology & Behavior* **81**: 623–627.

- Torner, L. (2016). Actions of prolactin in the brain: from physiological adaptations to stress and neurogenesis to psychopathology. *Frontiers in Endocrinology* **7**: 25–25.
- Torner, L., Karg, S., Blume, A., Kandasamy, M., Kuhn, H.-G., Winkler, J., Aigner, L., Neumann, I.D. (2009). Prolactin prevents chronic stress-induced decrease of adult hippocampal neurogenesis and promotes neuronal fate. *The Journal of Neuroscience* **29**: 1826–1833.
- Torner, L., Neumann, I.D. (2002). The brain prolactin system: involvement in stress response adaptations in lactation. *Stress* **5**: 249–257.
- Touret, M., Parrot, S., Denoroy, L., Belin, M.-F., Didier-Bazes, M. (2007). Glutamatergic alterations in the cortex of genetic absence epilepsy rats. *BMC Neuroscience* **8**: 69–69.
- Trimble, M.R. (1978). Serum prolactin in epilepsy and hysteria. *British Medical Journal* **2**: 1682–1682.
- Türkoğlu, R., Giriş, M., Gencer, M., Akcan, U., Örcen, A. (2016). Serum prolactin levels in multiple sclerosis, neuromyelitis optica, and clinically isolated syndrome patients. *Noro Psikiyatri Arsivi* **53**: 353–356.
- Tworoger, S.S., Hankinson, S.E. (2008). Prolactin and breast cancer etiology: an epidemiologic perspective. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* **13**: 41–53.
- van der Knaap, M.S., Naidu, S., Pouwels, P.J.W., Bonavita, S., van Coster, R., Lagae, L., Sperner, J., Surtees, R., Schiffmann, R., Valk, J. (2002). New syndrome characterized by hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum. *American Journal of Neuroradiology* **23**: 1466–1474.
- van Luijtelaaar, G., Budziszewska, B., Jaworska-Feil, L., Ellis, J., Coenen, A., Lasoń, W. (2001). The ovarian hormones and absence epilepsy: a long-term EEG study and pharmacological effects in a genetic absence epilepsy model. *Epilepsy Research* **46**: 225–239.
- van Luijtelaaar, G., Budziszewska, B., Tetich, M., Lasoń, W. (2003). Finasteride inhibits the progesterone-induced spike-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **75**: 889–894.
- van Luijtelaaar, G., Budziszewska, B., Tolmacheva, E.A. (2009). Hormones and absence epilepsy. En: *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research*. Edición por: Schwartzkroin, P.A. Academic Press, pp. 488–495.
- van Luijtelaaar, G., Coenen, A. (2009). Genetic models of absence epilepsy: new concepts and insights. En: *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research*. Edición por: Schwartzkroin, P.A. Academic Press pp. 1-8.
- van Luijtelaaar, G., Coenen, A. (1988). Circadian rhythmicity in absence epilepsy in rats. *Epilepsy Research* **2**: 331–336.
- van Luijtelaaar, G., Coenen, A. (1986). Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neuroscience Letters* **70**: 393–397.
- van Luijtelaaar, G., Dirksen, R., Vree, T.B., van Haaren, F. (1996). Effects of acute and chronic cocaine administration on EEG and behaviour in intact and castrated male and intact and ovariectomized female rats. *Brain Research Bulletin* **40**: 43–50.

- van Luijtelaaar, G., Onat, F.Y., Gallagher, M.J. (2014). Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter? *Neurobiology of Disease, Sex and epileptogenesis* **72**: 167–179.
- van Luijtelaaar, G., Sitnikova, E., Littjohann, A. (2011). On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. *Clinical EEG and Neuroscience* **42**: 83–97.
- Vanoye-Carlo, A., Morales, T., Ramos, E., Mendoza-Rodríguez, A., Cerbón, M. (2008). Neuroprotective effects of lactation against kainic acid treatment in the dorsal hippocampus of the rat. *Hormones and Behavior* **53**: 112–123.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, A., Depaulis, A., Rumbach, L., Warter, J.M. (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neuroscience Letters* **33**: 97–101.
- Vilar, L., Freitas, M.C., Naves, L.A., Casulari, L.A., Azevedo, M., Montenegro, R.J., Barros, A.I., Faria, M., Nascimento, G.C., Lima, J.G., Nóbrega, L.H., Cruz, T.P., Mota, A., Ramos, A., Violante, A., Lamounier Filho, A., Gadelha, M.R., Czepielewski, M.A., Glezer, A., Bronstein, M.D. (2008). Diagnosis and management of hyperprolactinemia: results of a Brazilian multicenter study with 1234 patients. *Journal of Endocrinological Investigation* **31**: 436–444.
- Waalder, P.E., Blom, B.H., Skeidsvoll, H., Mykletun, A. (2000). Prevalence, classification, and severity of epilepsy in children in Western Norway. *Epilepsia* **47**: 802–810.
- Walker, T.L., Vukovic, J., Koudijs, M.M., Blackmore, D.G., Mackay, E.W., Sykes, A.M., Overall, R.W., Hamlin, A.S., Bartlett, P.F. (2012). Prolactin stimulates precursor cells in the adult mouse hippocampus. *PLOS ONE* **7**: e44371–e44371.
- Walsh, R.J., Slaby, F.J., Posner, B.I. (1987). A receptor-mediated mechanism for the transport of prolactin from blood to cerebrospinal fluid. *Endocrinology* **120**, 1846–1850.
- Wang, T., Lu, J., Xu, Y., Li, M., Sun, J., Zhang, J., Xu, B., Xu, M., Chen, Y., Bi, Y., Wang, W., Ning, G. (2013). Circulating prolactin associates with diabetes and impaired glucose regulation. *Diabetes Care* **36**: 1974.
- Wang, Y.-Q., Wen, Y., Wang, M.-M., Zhang, Y.-W., Fang, Z.-X. (2021). Prolactin levels as a criterion to differentiate between psychogenic non-epileptic seizures and epileptic seizures: A systematic review. *Epilepsy Research* **169**: 106508.
- Weinhaus, A.J., Stout, L.E., Sorenson, R.L., 1996. Glucokinase, hexokinase, glucose transporter 2, and glucose metabolism in islets during pregnancy and prolactin-treated islets in vitro: mechanisms for long term up-regulation of islets. *Endocrinology* **137**: 1640–1649.
- Weir, B. (1964). Spikes-Wave from stimulation of reticular core. *Archives of Neurology* **11**: 209–218.
- Wolf, P. (2014). History of epilepsy: nosological concepts and classification. *Epileptic Disorders* **16**: 261–269.
- Wroe, S.J., Henley, R., John, R., Richens, A. (1989). The clinical value of serum prolactin measurement in the differential diagnosis of complex partial seizures. *Epilepsy Research* **3**: 248–252.

- Yalçın, Ö. (2012). Genes and molecular mechanisms involved in the epileptogenesis of idiopathic absence epilepsies. *Seizure* **21**: 79–86.
- Yang, X., Meyer, K., Friedl, A. (2013). STAT5 and prolactin participate in a positive autocrine feedback loop that promotes angiogenesis. *Journal of Biological Chemistry* **288**: 21184–21196.
- Yao, S., Lin, P., Vera, M., Akter, F., Zhang, R.-Y., Zeng, A., Golby, A.J., Xu, G., Tie, Y., Song, J. (2020). Hormone levels are related to functional compensation in prolactinomas: A resting-state fMRI study. *Journal of the Neurological Sciences* **411**: 116720.