



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



INSTITUTO DE FISIOLOGÍA

**LABORATORIO DE NEUROFISIOLOGÍA DE LA
CONDUCTA Y CONTROL MOTOR.**

**Efecto de la progesterona y la alopregnanolona
en las crisis de ausencia en la rata *taiep*.**

Tesis para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

PRESENTA

Lic. en Biotecnología:

Elizabeth Alexandra Rojas Sánchez.

DIRECTORES DE TESIS:

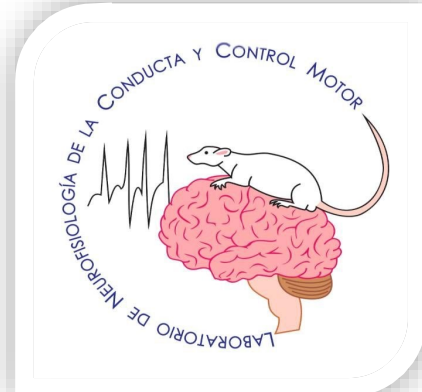
Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Noviembre del 2024

AGRADECIMIENTOS

- La presente tesis se realizó gracias a la beca nacional de maestría otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT); CVU No. 1133116.
- Agradezco a los proyectos de Ciencia Básica del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) con los números 24333 y 243247, a favor de la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez y del Dr. José Ramón Eguibar Cuenca, respectivamente.
- El proyecto también fue parcialmente financiado por el Proyecto VIEP-BUAP 2023-2024, otorgado al Cuerpo Académico Consolidado en Neuroendocrinología BUAP-CA-288.



Mis directores de tesis, la **Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez** y el **Dr. José Ramón Eguibar Cuenca**, permitieron que realizara este proyecto en el Laboratorio de **Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología**. Agradezco profundamente su confianza, sus enseñanzas y su dedicación a mi formación científica, las cuales fueron fundamentales para alcanzar los estándares requeridos en este proyecto.

Mis revisores de tesis, el **Dr. Fabián Galindo Ramírez** y la **Dra. Bertha Alicia León Chávez**, aportaron valiosas observaciones y comentarios que contribuyeron significativamente a mejorar este trabajo de investigación.

La **M. en C. Araceli Ugarte Rojano** brindó su apoyo incansable como asesora, con paciencia y guía en cada paso de los procesos experimentales de este trabajo. Al **M.V.Z. Ángel David Silva Terrazas** y al **C. José Lima Morgan**, les agradezco sinceramente su compromiso con el cuidado y bienestar de los animales, asegurando siempre el cumplimiento ético en cada etapa del estudio.

A **Dios** le agradezco la sabiduría necesaria para afrontar con inteligencia el camino de la maestría, la resiliencia, la luz en mi camino y por no dejarme sola en este proceso.

Mis padres, **Guillermina Sánchez** y **José Rojas**, han sido mi mayor fuente de amor, apoyo y motivación. Gracias por enseñarme el verdadero significado de la perseverancia y el esfuerzo, por brindarme la fuerza para seguir adelante en los momentos más difíciles, y por creer en mí incluso cuando yo misma dudaba. Este logro es tanto suyo como mío, ya que, sin su amor incondicional, este camino no habría sido posible. Mis hermanos, **Miguel Rojas** y **Alejandro Rojas**, han sido mis compañeros de vida, brindándome siempre su comprensión y palabras de aliento. Su presencia fue un pilar fundamental durante todo este proceso, y su confianza en mí ha sido mi motor para no rendirme. **Francisco Sánchez**, con su constante orientación y apoyo en cada etapa profesional, estuvo siempre dispuesto a ofrecerme sus consejos, resolver mis dudas y acompañarme durante todo el proceso.

Mi equipo de aventuras durante la maestría, Karla Vázquez, Hallel Aquino y Diego Martínez, fueron mucho más que amigos: mi refugio, mis cómplices y el hombro en el que apoyarme cuando lo necesitaba. Agradezco las charlas interminables, las risas, el apoyo incondicional y por hacer de cada día una experiencia memorable. Su amistad ha sido una de las mejores partes de este recorrido, y cada logro que celebro también es parte de ustedes. Después de todo, ¿cuál sufrir?

Mis **colegas y amigos**, con un agradecimiento especial a **Salvador Hernández**, quien ha sido un apoyo importante en el laboratorio. Gracias por tu paciencia, tus enseñanzas y tu disposición para ayudarme en los momentos más desafiantes. A **Lilia Díaz, Adriana Bravo, Juan Carlos Ahumada, Adriela Fierro, Rubén Castillo, Alejandro Luna, Elizabeth López, Diana Mexicano y Laura Cruz**, les agradezco de corazón su amistad sincera y su apoyo a lo largo de este camino. Su compañía hizo que cada paso fuera más llevadero, y sus palabras de ánimo fueron el motor que me impulsó a seguir adelante. Gracias por estar ahí y por hacer de este viaje algo realmente especial.

Y ahora sí... ¿ya se vale decir "padrino"? ¡Vamos por esos vertebrados para celebrar!

LISTA DE ABREVIATURAS.

CICUAL	Comité Institucional para el cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio
CO₂	Bióxido de carbono
DEO	Descarga espiga-onda
DHP	Dihidroprogesterona
DPN	Días postnatales
EAI	Epilepsia de Ausencia Infantil
EEG	Electroencefalograma
E.E.M.	Error Estándar de la Media
EMG	Electromiograma
EOG	Electrooculograma
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GABA_A	Receptor de GABA tipo A
GABA_B	Receptor de GABA tipo B
GABA_C	Receptor de GABA tipo C
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg
GH	Hormona de Crecimiento
GMP_C	Guanosina Monofosfato Cíclico
H-ABC	Hipomielinización con Atrofia de los Ganglios Basales y Cerebelo
ILAE	International League Against Epilepsy
IRM	Imagen por Resonancia Magnética
MBP	Proteína básica de la Mielina

MOBP	Proteína de la Oligodendrocitoglia Asociada a la Mielina
MOR	Movimiento Ocular Rápido
mPRs	Receptores de membrana de progesterona
NRT	Núcleo Reticular del Tálamo
NO	Óxido Nítrico
P₄	Progesterona
PLP	Proteína proteolipídica
PR	Receptores nucleares de progesterona
SNC	Sistema Nervioso Central
RE	Receptores Específicos
WAG/Rij	Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats

Contenido

AGRADECIMIENTOS	2
LISTA DE ABREVIATURAS.	4
1.-RESUMEN	8
2.-ABSTRACT	10
3.-INTRODUCCIÓN.....	12
Epilepsia.....	12
Epidemiología.	13
Crisis de ausencia.....	15
Fisiopatología	17
Circuito tálamo-cortical.	17
El Neurotransmisor GABA: Función y efectos en el sistema nervioso central	19
Participación del GABA en las crisis de ausencia.....	26
Descarga espiga-onda.....	28
El dimorfismo sexual de las crisis de ausencia.	29
La hormona como un factor regulador en la epilepsia.....	31
Las hormonas como neuroesteroides.	32
Biosíntesis de Neuroesteroides en el Sistema Nervioso Central.....	36
Progesterona.	37
La alopregnanolona.....	40
El 17- β -estradiol y su rol en la reproducción.	43
Modelos animales de crisis de ausencia.	46
La rata albina denominada epilepsia de ausencia de Estrasburgo, Francia de sus siglas en inglés (GAERS).	46
Las ratas Wistar Albino Glaxo de Rijswijk de los países bajos (WAG/Rij).	47
La rata <i>taiep</i> ; como un modelo de crisis de ausencia.	48
4.-ANTECEDENTES	52
Mecanismo de acción de progesterona y la alopregnanolona.....	52
La tubulinopatía hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo en la rata <i>taiep</i>	54
5.-JUSTIFICACIÓN.	55
6.-HIPÓTESIS.....	57

7.-OBJETIVOS.....	57
Objetivo General:	57
Objetivos Particulares:	57
8.-MÉTODOS Y MATERIAL.....	58
Diseño experimental.....	58
Instrumental quirúrgico.....	59
Animales de experimentación.....	60
1.-Ovariectomía.....	61
2.-Reemplazo hormonal y obtención de muestras de frotis vaginal.....	63
3.-Cirugía estereotáxica para implante de electrodos.....	64
4.-Habitación pre-registro.....	66
5.-Registro control.....	67
6.-Alopregnanolona.....	68
7.-Progesterona.....	68
8.-Identificación de las descargas espiga-onda.....	68
9.-RESULTADOS.....	70
Efecto de la alopregnanolona en la frecuencia, duración y latencia de las descargas espiga-onda en ratas <i>taiep</i> hembras adultas.....	70
Efecto de la progesterona en la frecuencia, duración y latencia de las descargas espiga-onda en ratas <i>taiep</i> hembras adultas.....	79
10.-DISCUSIÓN.....	88
11.-CONCLUSIONES.....	98
12.-PERSPECTIVAS.....	100
13.-REFERENCIAS.....	101

1.-RESUMEN

Las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia generalizada caracterizada por episodios transitorios de pérdida de la conciencia, acompañados de un patrón de descargas espiga-onda (DEO) en el electroencefalograma (EEG), con una frecuencia media de 6.25 Hz, también observada en las ratas *taiep*. Estas ratas presentan una leucodistrofia similar a la hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC) de los humanos. Las descargas espiga-onda en ratas *taiep* se ven influenciadas por las fluctuaciones hormonales durante el ciclo estral, así como en el embarazo y la lactancia, lo que sugiere un papel relevante de los progestágenos en su expresión.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la progesterona y su principal metabolito, la alopregnanolona, en la modulación de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas, ovariectomizadas y estrogenizadas. Se implantaron electrodos en la corteza cerebral mediante cirugía estereotáxica, junto con electrodos para el registro electromiográfico y electrooculográfico, lo cual permitió monitorear la actividad neuronal, muscular y ocular durante las descargas espiga-onda. Se realizaron dos sesiones de registro EEG de 12 horas cada una, administrándose por vía subcutánea 0.2 mL de aceite de oliva como control, y el segundo registro consistió en una administración subcutánea de progesterona a dosis de 10 mg/Kg, 50 mg/Kg, ó alopregnanolona a 10 mg/Kg.

Nuestros resultados muestran que la administración de 10 mg/Kg de progesterona disminuyó significativamente la frecuencia de las DEO en un 39.41% a las 09:00 h ($P < 0.01$), sugiriendo un efecto inhibitor de la progesterona a dosis bajas. Por el contrario, la dosis de 50 mg/Kg de progesterona incrementó significativamente tanto la frecuencia como la duración de las DEO, con un aumento de un 42.7% en la frecuencia a las 15:00 h ($P < 0.001$), y de un 34.8% en duración a las 21:00 h ($P < 0.05$), lo que respalda la hipótesis de un efecto proconvulsivo a dosis más altas, posiblemente mediado por la conversión de la progesterona a alopregnanolona y su modulación mediante el receptor GABA_A.

La administración de alopregnanolona (10 mg/Kg) produjo un incremento significativo de un 74% en la duración de las DEO a las 07:00 h ($P < 0.001$), y un aumento de un 75% en la frecuencia de las crisis a las 13:00 ($P < 0.01$). Esto sugiere que la alopregnanolona actúa potenciando la inhibición tónica a través de los receptores GABA_A extrasinápticos, lo cual facilita la sincronización prolongada en el circuito tálamo-cortical responsable de las DEO.

En conclusión, la investigación confirma el efecto dual de la progesterona y de la alopregnanolona en la modulación de las crisis de ausencia en las ratas *taiep*. Estos hallazgos destacan la importancia de los progestágenos en la regulación de la actividad epiléptica, y abren nuevas perspectivas para el tratamiento de la epilepsia de ausencia, especialmente en el contexto de la epilepsia catamenial en mujeres, considerando la modulación del sistema GABAérgico como una estrategia terapéutica potencial.

2.-ABSTRACT

Absence seizures are a type of generalized epilepsy characterized by transient episodes of loss of consciousness, accompanied by a spike-and-wave discharge (SWD) pattern in the electroencephalogram (EEG), with an average frequency of 6.25 Hz, also observed in *taiep* rats. These rats present a leukodystrophy similar to hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC) in humans. Spike-and-wave discharges in *taiep* rats are influenced by hormonal fluctuations during the estrous cycle, as well as during pregnancy and lactation, suggesting a relevant role of progestogens in their expression.

The aim of this study was to evaluate the effect of progesterone and its main metabolite, allopregnanolone, on the modulation of spike-and-wave discharges in adult female *taiep* rats, which were ovariectomized and estrogenized. Electrodes were implanted in the cerebral cortex through stereotaxic surgery, along with electrodes for electromyographic and electrooculographic recording, which allowed monitoring of neural, muscular, and ocular activity during spike-and-wave discharges. Two 12-hour EEG recording sessions were conducted, with 0.2 mL of olive oil administered subcutaneously as a control, followed by the subcutaneous administration of progesterone at doses of 10 mg/Kg and 50 mg/Kg, as well as allopregnanolone at 10 mg/Kg.

Our results show that the administration of 10 mg/kg of progesterone significantly decreased the frequency of SWD by 23.5% at 09:00 h ($P < 0.01$), suggesting an inhibitory effect of progesterone at low doses. In contrast, the 50 mg/Kg dose of progesterone significantly increased both the frequency and duration of SWD, with a 42.7% increase in frequency at 15:00 h ($P < 0.001$), and a 34.8% increase in duration at 21:00 h ($P < 0.05$), supporting the hypothesis of a proconvulsant effect at higher doses, possibly mediated by conversion to allopregnanolone and its modulation of the GABA_A receptor.

The administration of allopregnanolone (10 mg/kg) produced a significant 74% increase in the duration of SWD at 07:00 h ($P < 0.001$), and a 75% increase in seizure

frequency at 13:00 h ($P < 0.01$). This suggests that allopregnanolone acts by enhancing tonic inhibition through extrasynaptic GABA_A receptors, which facilitates prolonged synchronization in the thalamo-cortical circuit responsible for SWD.

In conclusion, this research confirms the dual effect of progesterone and allopregnanolone in modulating absence seizures in taiep rats. These findings highlight the importance of progestogens in the regulation of epileptic activity and open new perspectives for the treatment of absence epilepsy, especially in the context of catamenial epilepsy in women, considering GABAergic modulation as a potential therapeutic strategy.

3.-INTRODUCCIÓN

Epilepsia

La epilepsia, una de las patologías neurológicas más prevalentes, afecta a individuos de todas las edades, etnias, estratos socioeconómicos y regiones geográficas (Organización Mundial de la Salud, 2019). Este trastorno cerebral crónico se caracteriza por una predisposición persistente a experimentar crisis epilépticas, las cuales representan la manifestación transitoria de signos y/o síntomas que resultan de una actividad neuronal anormal excesiva o sincrónica en el cerebro (Fisher *et. al.*, 2017). Estas crisis, tienen significativas implicaciones en los ámbitos neurobiológico, cognitivo, psicológico y social las cuales derivan de la recurrencia de episodios epilépticos (Fisher *et. al.*, 2014).

La Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE), un organismo internacional que establece estándares para la clasificación de la epilepsia propuso una clasificación en 2017. Según la ILAE, la epilepsia se define como la ocurrencia de dos o más convulsiones no provocadas que ocurran con al menos 24 horas de diferencia (Fisher *et. al.*, 2017).

Esta clasificación se fundamenta en las manifestaciones clínicas, los hallazgos electroencefalográficos, el sustrato anatómico potencial y los aspectos conductuales que caracterizan a las crisis (Fisher *et. al.*, 2017). La Figura 1 muestra la clasificación de los diferentes tipos de crisis epilépticas propuesta por la ILAE en 2017.

INICIO FOCAL		INICIO GENERALIZADO		INICIO DESCONOCIDO
CONCIENCIA PRESERVADA	CONCIENCIA ALTERADA	MOTORA		MOTOR
INICIO MOTOR		Tónica-clónica Clónica Tónica Mioclónica Mioclónica-tónica-clónica Mioclónica-atónica Atónica Espasmos epilépticos		Tónica-Clónica Otro motor
Automatismo Atónica Clónica Espasmos epilépticos Hiperquinética Mioclónica Tónica		NO MOTORA		NO MOTOR
INICIO NO MOTOR		Ausencia Típica Atípica Mioclónica Mioclonía palpebral		Detención del comportamiento
Autonómica Detención del comportamiento Cognitiva Emocional Sensorial				NO CLASIFICADA
FOCAL A BILATERAL TÓNICA-CLÓNICA				

Figura 1. Clasificación de los diversos tipos de crisis epilépticas por la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE), 2017. Esta clasificación, distingue las crisis según su etiología, el estado de conciencia del individuo durante el episodio, así como los signos motores y no motores que acompañan al evento epiléptico (Modificado de Fisher *et. al.*, 2017).

La clasificación se basa en el origen de las crisis, dividiéndolas en crisis focales, generalizadas o de origen desconocido. Las crisis focales se subdividen según la presencia o ausencia de pérdida de conciencia, así como la manifestación de signos motores y no motores. De manera análoga, las crisis generalizadas se categorizan en función de la presencia de signos motores. Por último, las crisis de origen desconocido se diferencian entre aquellas con signos motores y las que carecen de ellos (Fisher *et. al.*, 2017) .

Epidemiología.

La epilepsia, considerada una de las enfermedades neurológicas más prevalentes a nivel mundial, afecta a aproximadamente 50 millones de personas de todas las

edades. Las personas que viven con epilepsia tienen un riesgo de muerte prematura hasta tres veces mayor que el de la población general, y su calidad de vida suele verse comprometida debido a la estigmatización y discriminación asociadas con la enfermedad (Organización Mundial de la Salud, 2019). Se estima que cerca del 80% de los casos de epilepsia se encuentran en países de ingresos bajos y medios, donde el acceso a un tratamiento adecuado es limitado (Organización Mundial de la Salud, 2019).

En México, se calcula que entre 349 y 680 personas por cada 100,000 habitantes padecen epilepsia, lo que representa una importante carga económica familiar y social para la salud pública (Cruz-Cruz *et al.*, 2017). Aunque la epilepsia puede presentarse a cualquier edad, su incidencia es mayor en la infancia, particularmente en los primeros años de vida (Durá *et al.*, 2007). La falta de recursos y programas específicos en diversas regiones del país contribuye a una brecha en el diagnóstico y tratamiento oportuno, lo que exacerba las complicaciones asociadas con la enfermedad (Cowan, 2002; MacAllister y Schaffer, 2007). A pesar de la existencia de iniciativas como lo es el Programa Nacional de Atención a la Epilepsia en México, la cobertura sigue siendo limitada, especialmente en zonas rurales (Resendiz, 2023).

La incidencia de crisis de ausencia se observa en una proporción que oscila entre dos a ocho casos por cada 100,000 niños menores de 16 años, con una prevalencia que varía entre un 2% a un 10% en niños que padecen cualquier tipo de epilepsia (Eguibar *et al.*, 2010a). Además, se ha reportado que estas crisis predominan de 2 a 5 veces más en niñas que en niños, representando un 2.5% de las crisis epilépticas en niños, mientras que en las niñas podrían llegar a constituir hasta un 12% (Banerjee *et al.*, 2009).

La epilepsia de ausencia infantil (EAI) afecta principalmente a niños entre los 4 y los 10 años, con un promedio de inicio de síntomas alrededor de los seis años. La EAI constituye entre un 10% y entre un 17% de todos los casos de epilepsia pediátrica, siendo más frecuente en niñas (Santillán y Sequeria, 2023). Esta mayor incidencia en el sexo femenino se debe a diferencias hormonales y genéticas que influyen en

la excitabilidad neuronal durante el desarrollo, lo que requiere de un análisis más profundo para comprender el papel de los factores biológicos y su interacción con las crisis epilépticas (Herzog, 2008).

El diagnóstico de la epilepsia del tipo crisis de las ausencias puede ser complicado debido a la naturaleza breve y sutil de estas crisis de ausencia, que suelen confundirse con problemas de atención o de comportamiento (Fisher *et. al.*, 2017; MacAllister y Schaffer, 2007). La identificación temprana y el tratamiento oportuno son fundamentales para mejorar el pronóstico; siendo relevantes los factores de riesgo como los antecedentes familiares de epilepsia, alteraciones en el desarrollo prenatal y neonatal, y exposición a infecciones o lesiones cerebrales durante la infancia (Fisher *et. al.*, 2017; Panayiotopoulos, 2010).

La epilepsia del tipo crisis de ausencia tiene un impacto significativo en la vida académica y social de los niños afectados. Las crisis frecuentes pueden interferir con el rendimiento escolar, provocando problemas de aprendizaje y limitando la participación en actividades sociales (MacAllister y Schaffer, 2007). Además, el estigma social y la falta de comprensión de la condición por parte de maestros y los compañeros pueden generar aislamiento y problemas emocionales, como son la ansiedad y la depresión (Cowan, 2002). Un tratamiento adecuado, que incluya tanto el control de las crisis como el apoyo psicosocial, es esencial para mejorar la calidad de vida de los niños con EAI y sus familias (Cowan, 2002; MacAllister y Schaffer, 2007).

Crisis de ausencia.

La epilepsia de ausencia, comúnmente observada en la infancia, se caracteriza por episodios epilépticos generalizados que afectan ambos hemisferios cerebrales y van acompañados de pérdida de la conciencia (Jafarian *et. al.*, 2020). Estos episodios no se manifiestan con convulsiones y se pueden clasificar en formas típicas y atípicas. Las crisis de ausencia típicas se identifican por una súbita pérdida de la conciencia y se caracterizan por patrones de ondas cerebrales sincronizadas bilaterales, conocidas como espiga-onda, registradas en el electroencefalograma (EEG) a una frecuencia principal de alrededor de 2.5 a 4 Hz. Usualmente, la

duración de estos episodios oscila entre 3 y 10 segundos. Además, estas crisis pueden presentarse con movimientos involuntarios como parpadeo, sudoración, salivación y palpitaciones. Los pacientes pueden quedarse con la mirada fija y no reaccionar a lo que ocurre a su alrededor (Jafarian *et. al.*, 2020). La Figura 2 muestra un ejemplo de un registro EEG de una crisis de ausencia en una niña de 8.5 años, en el que se observa un patrón de descarga tipo espiga-onda a 3 Hz.

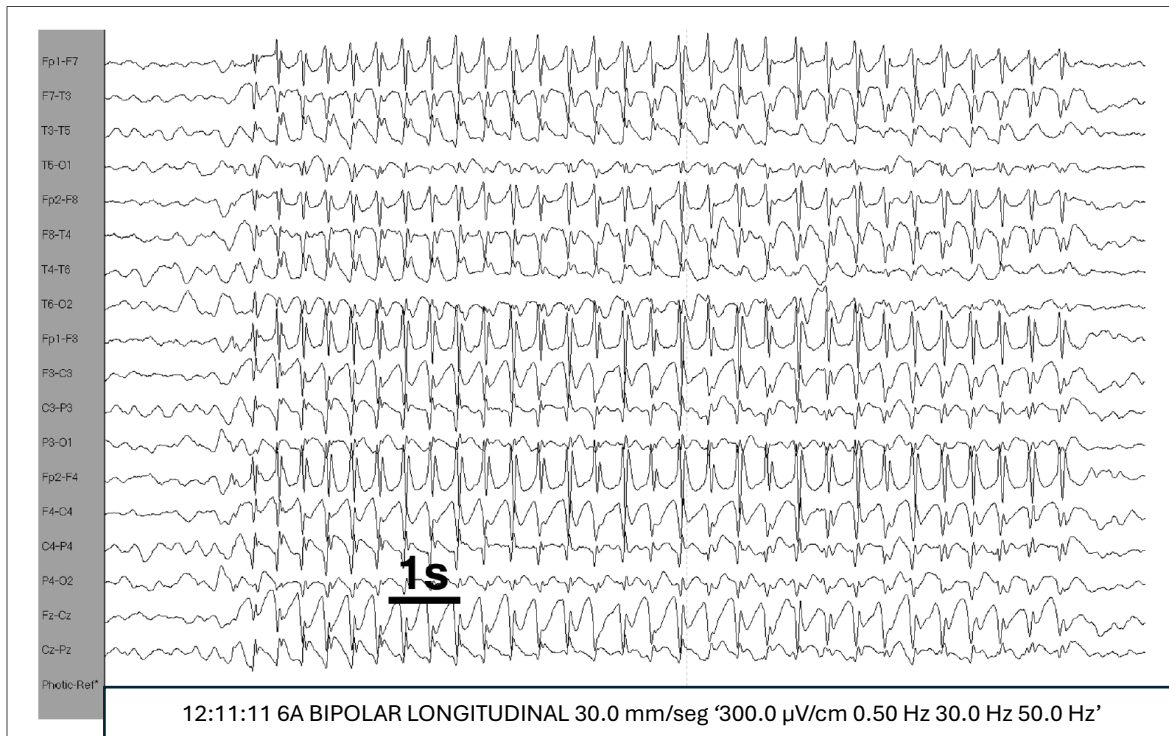


Figura 2. Registro electroencefalográfico de una niña de 8.5 años. El cual muestra un patrón de descarga tipo espiga-onda a una frecuencia de 3 Hz, lo cual es consistente con una crisis de ausencia. El registro utiliza un montaje bipolar longitudinal, con una velocidad de 30 mm/seg (Modificado de Travé y Petri, 2006a).

Es importante mencionar que se ha reportado que las mujeres presentan síndromes epilépticos más complejos al igual que las crisis, como es el caso de la epilepsia catamenial que está relacionada de manera directa con las diferentes fases del ciclo menstrual.

Este particular tipo de epilepsia está relacionada con los niveles fluctuantes de neuroesteroides, los cuales influyen directamente en la susceptibilidad y protección

ante las crisis epilépticas de diferente manera tanto en mujeres como en hombres (Eguibar *et. al.*, 2024; Reddy, 2016).

Los anticonceptivos hormonales son utilizados por aproximadamente 100 millones de mujeres a nivel mundial, los cuales, a pesar de ser efectivos, tienen diversos efectos secundarios por ejemplo las exacerbaciones de las crisis epilépticas (Eguibar *et. al.*, 2024; Verrotti *et. al.*, 2015).

Es por esto que tiene que ser fundamental estudiar la fisiopatología, así como el tratamiento de la epilepsia en mujeres, que incluya las variaciones hormonales y el impacto que ejercen estas sobre los tratamientos, para poder reducir el porcentaje de riesgos que conllevan las crisis epilépticas.

Fisiopatología

Las crisis de ausencia se originan debido a una sobreexcitación y una sincronización excesiva del sistema tálamo-cortical, la cual es fundamental para la transmisión de señales sensoriales dirigida a la corteza cerebral. El tálamo es el principal intermediario, donde las neuronas glutamatérgicas que son las que utilizan el neurotransmisor glutamato, llevan la información a las cortezas sensoriales primarias, excluyendo el sentido del olfato (Pimienta, 2004). El proceso se mantiene por la conexión bidireccional entre las neuronas tálamo-corticales y las neuronas de la capa VI de la corteza cerebral, esto da como resultado la modulación tálamo-cortical.

Circuito tálamo-cortical.

El circuito está conformado por varios tipos de neuronas, principalmente por 2 excitadoras que son las piramidales y tálamo-corticales y 2 inhibitorias, neuronas del núcleo reticular talámico y las interneuronas corticales inhibitorias (Sherman y Guillery, 1998). Las neuronas tálamo-corticales envían dos tipos de proyecciones a la corteza:

- 1.-Proyecciones que se conectan con las neuronas piramidales en la capa VI para el procesamiento sensorial (Kostopoulos, 2000).

2.-Proyecciones que distribuyen señales en las capas I y VI de la corteza cerebral, sin concentrarse en una sola capa como lo hace la proyección específica (Kostopoulos, 2000).

En la Figura 3 se muestra un esquema de los circuitos tálamo-corticales-cortico-talámicos y sus proyecciones. Las proyecciones no específicas ayudan a sincronizar y regular la actividad de la corteza, contribuyendo a generar ritmos generales los cuales están directamente relacionados con los estados de alerta y patrones del sueño (Kostopoulos, 2000).

Ambas proyecciones actúan sobre el núcleo reticular del tálamo, el cual genera un mecanismo de inhibición que regula la excitación (Kostopoulos, 2000).

El proceso fundamental para sincronizar ritmos en la corteza cerebral es la actividad oscilatoria de las neuronas tálamo-corticales, la cual es influenciada por la acción del núcleo reticular del tálamo (NRT), el cual está compuesto principalmente por neuronas GABAérgicas (Lopez *et. al.*, 2021). Las propiedades intrínsecas de las neuronas tálamo-corticales, como por ejemplo las corrientes dependientes de calcio tipo T, entre otras, facilitan los disparos de bajo umbral como es el caso de las oscilaciones rítmicas. Estas propiedades electrofisiológicas son fundamentales para la generación de las descargas espiga-onda (DEO), que caracterizan a las crisis de ausencia en los humanos (Hill y Tononi, 2005; Ibarra, 2022).

El NRT es el encargado de regular las oscilaciones del circuito tálamo-cortical mediante conexiones inhibitorias, las cuales facilitan la generación de ritmos delta y la sincronización con la corteza cerebral durante el sueño (Hill y Tononi, 2005).

La estructura y sus complejas conexiones, entre el tálamo, el NRT y la corteza cerebral son esenciales para entender cómo se generan, mantienen y controlan las descargas espiga-onda, lo que muestra que la fisiopatología que incluye al circuito tálamo-cortical es fundamental y puede ser la base para nuevas terapias específicas (Hernández, 2021; Ibarra, 2022) .

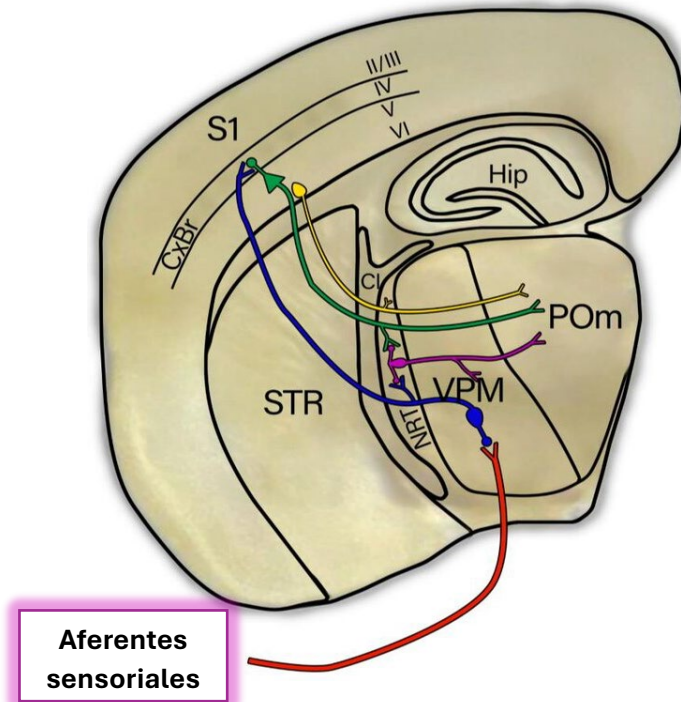


Figura 3. Diagrama de los circuitos tálamo-corticales-corticotalámicos. Las neuronas tálamo-corticales, transmiten la información recibida de las fibras aferentes sensoriales provenientes de los sistemas sensoriales periféricos hacia las neuronas de la corteza cerebral. Estas neuronas corticales, a su vez, modulan la actividad de las neuronas del núcleo reticular del tálamo. Ambos tipos neuronales envían proyecciones de regreso a las neuronas tálamo-corticales para regular su actividad (Modificado de Adibi, 2019). S1= somatosensorial primaria; STR= cuerpo estriado; VPM= núcleo ventral postero-medial; Hip= hipocampo; NRT= núcleo reticular del tálamo.

El Neurotransmisor GABA: Función y efectos en el sistema nervioso central

El ácido gamma-aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central (SNC). Actúa reduciendo la excitabilidad neuronal, desempeñando un papel esencial en la regulación del equilibrio entre la excitación y la inhibición en el cerebro y en la médula espinal. El GABA es sintetizado a partir del glutamato en las neuronas y se almacena en vesículas sinápticas; una vez liberado en la sinapsis, se une a receptores específicos en las neuronas postsinápticas para inducir sus efectos inhibitorios. Además, la glía participa en la

recaptura y metabolismo del GABA, facilitando su reciclaje y contribuyendo así al mantenimiento de los niveles de GABA en la sinapsis (Castellano *et. al.*, 2021).

La acción del GABA es crucial en procesos como el control de la ansiedad, el sueño y la relajación muscular. Al unirse a sus receptores específicos, el GABA facilita la entrada de iones de cloro en las neuronas, lo que hiperpolariza la membrana celular y disminuye la probabilidad de que la neurona genere un potencial de acción. Este efecto inhibitorio ayuda a mantener el equilibrio en las redes neuronales y previene una actividad excesiva que podría derivar en trastornos como la epilepsia y la ansiedad (Olsen y Sieghart, 2008).

Clasificación de los receptores para el GABA.

Los receptores para el GABA se dividen en tres tipos principales: GABA_A, GABA_B y GABA_C. Sin embargo, la nueva clasificación propuesta por Richard W. Olsen y Werner Sieghart ha profundizado principalmente en la diversidad del receptor GABA_A, identificando subtipos específicos como $\alpha 1\beta 2\gamma 2$, el más común en el cerebro y objetivo de las benzodiazepinas; $\alpha 2\beta 3\gamma 2$, asociado con efectos ansiolíticos; y otros subtipos como $\alpha 4\beta 3\delta$, que se encuentran en áreas como el tálamo y la corteza cerebelosa las cuales responden de manera selectiva a ciertos compuestos farmacológicos, incluyendo neuroesteroides como la alopregnanolona, así como anestésicos generales como el propofol y el etomidato, además del alcohol. Estos subtipos desempeñan roles distintos en la regulación de la actividad neuronal, modulando respuestas como la inhibición sináptica rápida y la modulación alostérica (Olsen y Sieghart, 2008).

1. Receptor GABA_A

En la Figura 4 se ilustra la estructura heteropentamérica del receptor GABA_A, un canal iónico activado por ligando con un canal de cloro en su centro. Este receptor pertenece a la familia de canales que se caracteriza por una estructura específica en forma de “lazo” de cisteína, un segmento estabilizado por un puente disulfuro entre los dos residuos de cisteína en la proteína. Este lazo es clave para la función del canal, ya que facilita su apertura o cierre en respuesta a la unión de un ligando,

como el neurotransmisor GABA. La familia de canales con lazo de cisteína incluye a otros canales importantes como los receptores nicotínicos para la acetilcolina y los receptores para la glicina, todos los cuales participan en la transmisión rápida de señales iónicas (Castellano *et. al.*, 2021).

La diversidad en la proteína que compone los subtipos de receptores GABA_A le confiere propiedades farmacológicas específicas, haciéndolos sensibles a moduladores como son las benzodiazepinas o los neuroesteroides por ejemplo, la alopregnanolona (Olsen Sieghart, 2008).

La criomicroscopía electrónica, ha facilitado el estudio de estos subtipos de receptores GABAérgicos con sitios de unión adicionales en las interfaces α - γ y α - β , lo cual permite el desarrollo de fármacos más selectivos (Castellano *et. al.*, 2021).

Esto es particularmente útil para el tratamiento de trastornos como la epilepsia y la ansiedad, ya que se pueden diseñar fármacos que actúan sobre los subtipos específicos sin afectar otras áreas del cerebro (Castellano *et. al.*, 2021; Olsen y Sieghart, 2008).

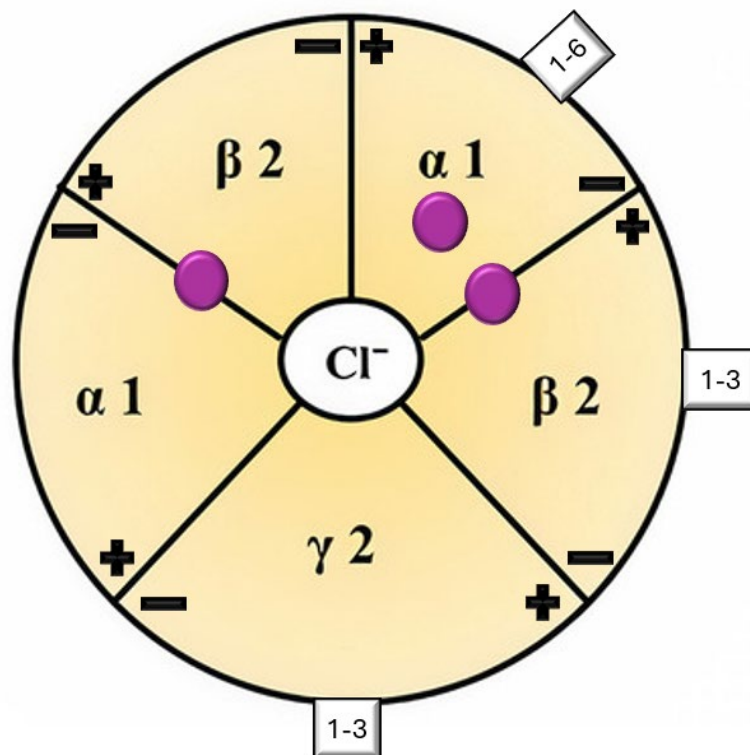


Figura 4. Se muestra un esquema del receptor GABA_A. Los círculos de color rosa representan únicamente los sitios específicos donde se unen los neuro-esteroides, ubicados en la subunidad $\alpha 1$ y en el interfaz β^+ y α^- . El receptor se conforma por 5 subunidades que rodean al canal de cloro: con dos subunidades $\alpha 1$, 2 $\beta 2$ y una $\gamma 2$, esto permite que el receptor disminuya la excitabilidad neuronal cuando se activa. El símbolo + indica como interactúan las subunidades entre ellas. Los números 1-6 igual que 1-3 son las posibles variantes que tienen cada tipo de subunidad en este receptor. La subunidad α puede tener 6 variantes, mientras que β la γ pueden tener tres variantes (Ghit *et. al.*, 2021).

Como puede verse en la Figura 5, los receptores GABA_A tienen una estructura transmembranal que permite su función como canal iónico activado por ligando. Estos receptores participan en dos tipos de inhibición:

- **Inhibición fásica:** La cual responde a la liberación del GABA de manera rápida, reduciendo la excitabilidad neuronal de manera transitoria y controlando las funciones como el sueño y la ansiedad (Mohamad *et. al.*, 2023).
- **Inhibición tónica:** Este tipo de inhibición ocurre en sitios extrasinápticos, donde el GABA mantiene una inhibición sostenida que controla la excitabilidad en estados prolongados, como en la epilepsia (Mohamad *et. al.*, 2023)

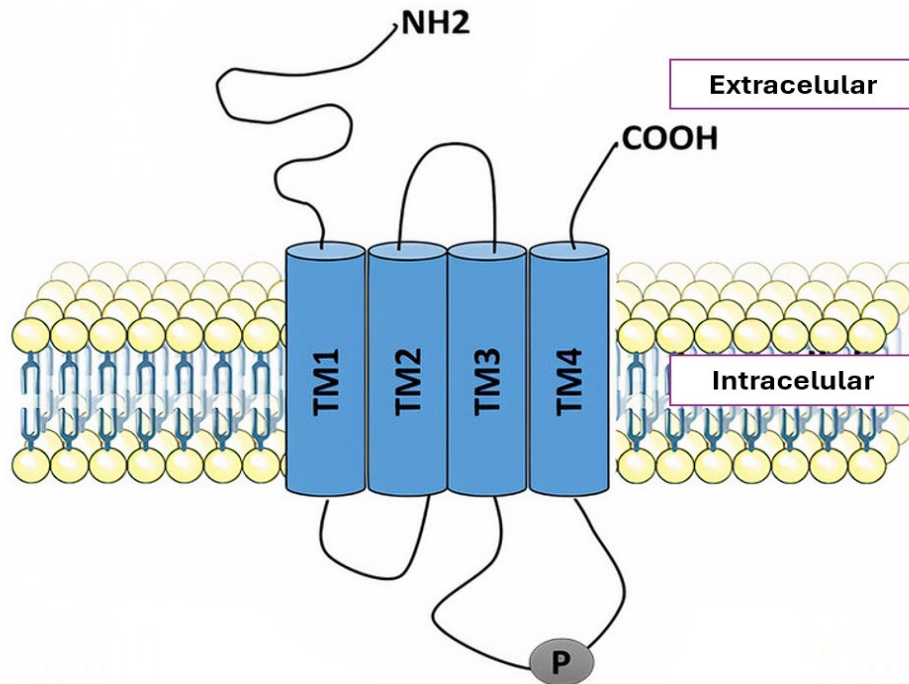


Figura 5. Estructura de una subunidad de receptor tipo GABA_A. Se ilustra una subunidad individual del receptor GABA_A en la membrana celular. Tomando en cuenta que el receptor completo está conformado por 5 subunidades, cada una tiene cuatro dominios transmembranales (TM1-TM4), las cuales atraviesan la bicapa lipídica para poder anclar el receptor a la membrana. El extremo amino terminal tiene sitios de unión para ligando como el GABA, mientras que el carboxilo terminal se encuentra en el exterior de la célula. El lazo intracelular entre los dominios TM3 y TM4 puede llegar a ser fosforilado (representado como un círculo gris con la letra P), el cual regula la actividad del receptor (Modificado de Ghit *et. al.*, 2021).

2. El receptor GABA_B. Tienen un mecanismo de acción metabotrópico con inhibición prolongada.

En la Figura 6 se ilustra la estructura del receptor GABA_B es metabotrópico y está acoplado a proteínas G, lo que le permite una inhibición prolongada que modula tanto los canales de potasio como los de calcio. Al activarse, este receptor reduce la excitabilidad neuronal al disminuir la liberación de neurotransmisores excitatorios, como es el glutamato. El receptor GABA_B se encuentra tanto en el SNC, como en el sistema nervioso periférico y es esencial en el control de los reflejos espinales y

el tono muscular. Este tipo de receptor ha sido estudiado como un blanco terapéutico para la espasticidad y el dolor neuropático (Castellano *et. al.*, 2021; Olsen y Sieghart, 2008).

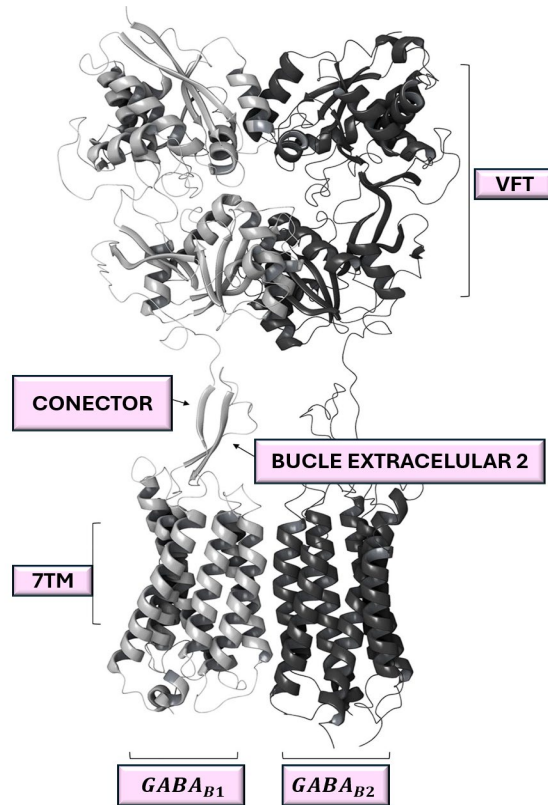


Figura 6. Estructura del receptor tipo GABA_B. Es un receptor metabotrópico que se acopla a proteínas G, en la forma heterodimérica por las subunidades en color gris GABA_{B1} y color negro GABA_{B2}. El receptor está conformado por un dominio extracelular Venus Flytrap (VFT), en el cual se une al GABA, y finalmente con el séptimo dominio transmembranal (7TM), es cual es responsable de activar la señalización intracelular al acoplarse con proteínas G. Este tipo de mecanismo permite la inhibición prolongada de la excitabilidad neuronal, modulando canales de potasio y calcio, para poder reducir la liberación de neurotransmisores excitatorios. El bucle extracelular 2 y el conector ayudan a mantener y controlar la conformación activa del receptor, el cual es esencial para disminuir la actividad sináptica, regular la plasticidad neuronal y contribuir a funciones como la analgesia, la regulación del tono muscular y la reducción de la ansiedad en el sistema nervioso central y periférico (Modificado de Evenseth *et. al.*, 2020).

3. El receptor GABA_C o GABA_{A-ρ}. Especialización en el procesamiento visual.

En la figura 7 se muestra la estructura del receptor GABA_C, a veces nombrado como GABA_{A-ρ}, es un canal de cloro que se localiza principalmente en la retina, donde regula el procesamiento visual. Aunque estructuralmente es similar al receptor GABA_A, el receptor GABA_C tiene una menor sensibilidad a moduladores comunes del GABA como son las benzodiazepinas (Mohamad *et. al.*, 2023).

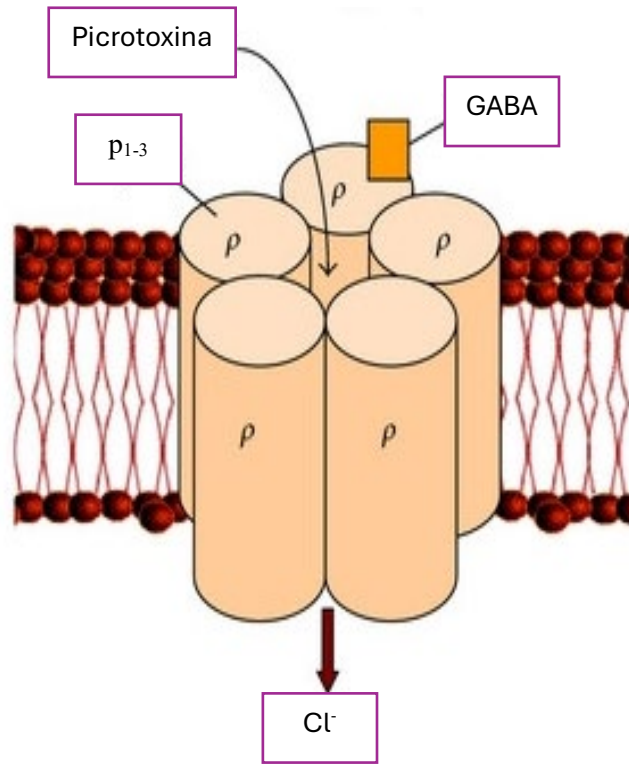


Figura 7. Estructura del receptor GABA_C o GABA_{A-ρ}. Se muestra la composición de subunidades ρ_{1-3} , que son las variantes del receptor GABA_C. La estructura pentamérica del receptor está representada por los cinco cilindros, cada uno simbolizando una subunidad que forma el canal de cloro (Cl⁻). El GABA se une al receptor para activar el canal, facilitando la inhibición sináptica. La picrotoxina actúa como un antagonista, bloqueando el canal y afectando la entrada de iones de cloro. Este receptor se localiza principalmente en la retina, donde participa en la regulación del procesamiento visual (Modificado de Popova, 2014).

Participación del GABA en las crisis de ausencia

La figura 8 muestra el ciclo de síntesis, liberación y recaptación ácido γ -aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor inhibitorio predominante en el sistema nervioso central y actúa regulando la excitabilidad neuronal. El GABA se sintetiza a partir del glutamato por la acción de la enzima glutamato descarboxilasa (Purves, 2001), y al unirse a sus receptores (principalmente GABA_A y GABA_B), induce una hiperpolarización de la neurona, reduciendo su excitabilidad (Purves, 2001). Además de su función inhibitoria directa, el GABA es importante para la modulación de la actividad rítmica en el circuito tálamo-cortical, como ya se ha mencionado participa en la generación de las descargas espiga-onda. Esta regulación se logra a través de las neuronas GABAérgicas en el núcleo reticular talámico, que facilita los estados de sueño de ondas lentas y las crisis de ausencia mediante una sincronización en bajas frecuencias (Steriade *et. al.*, 1993).

En vertebrados, los receptores para el GABA se localizan principalmente en las membranas de las células nerviosas y también en los astrocitos, donde regulan los canales de cloro, y en algunas localizaciones fuera del SNC (Purves, 2001).

La alta susceptibilidad a presentar crisis de ausencia puede ser por factores genéticos que afectan a los receptores GABA. Genes específicos que codifiquen estos receptores pueden llegar a modificar su expresión y funcionalidad, lo cual altera a su vez la sensibilidad de las neuronas GABAérgicas y la eficacia de la inhibición neuronal en el circuito tálamo-cortical y como resultado provocan alteraciones en la frecuencia e intensidad de las descargas espiga-onda (Lüttjohann y Van Luijtelaar, 2012; Wilson *et. al.*, 1999).

Se ha observado en modelos animales de crisis de ausencia una reducción de las descargas espiga-onda al administrar antagonistas para el receptor GABA_A (Eguibar *et. al.*, 2010). Además, se ha demostrado que las hormonas esteroides pueden influir en la expresión de las subunidades del receptor GABA_B, las cuales regulan el desarrollo de las descargas espiga-onda (Lüttjohann y Van Luijtelaar, 2012). Aunque la mayoría de los esteroides ejercen sus efectos a través de acciones

genómicas directas, hay evidencia de que sus acciones van más allá de la regulación transcripcional. Por ejemplo, las interacciones que modulan la actividad del receptor GABA_A pueden tener efectos sedantes-hipnóticos en los animales, lo cual representa un efecto a nivel de la membrana (Greenspan, 2012).

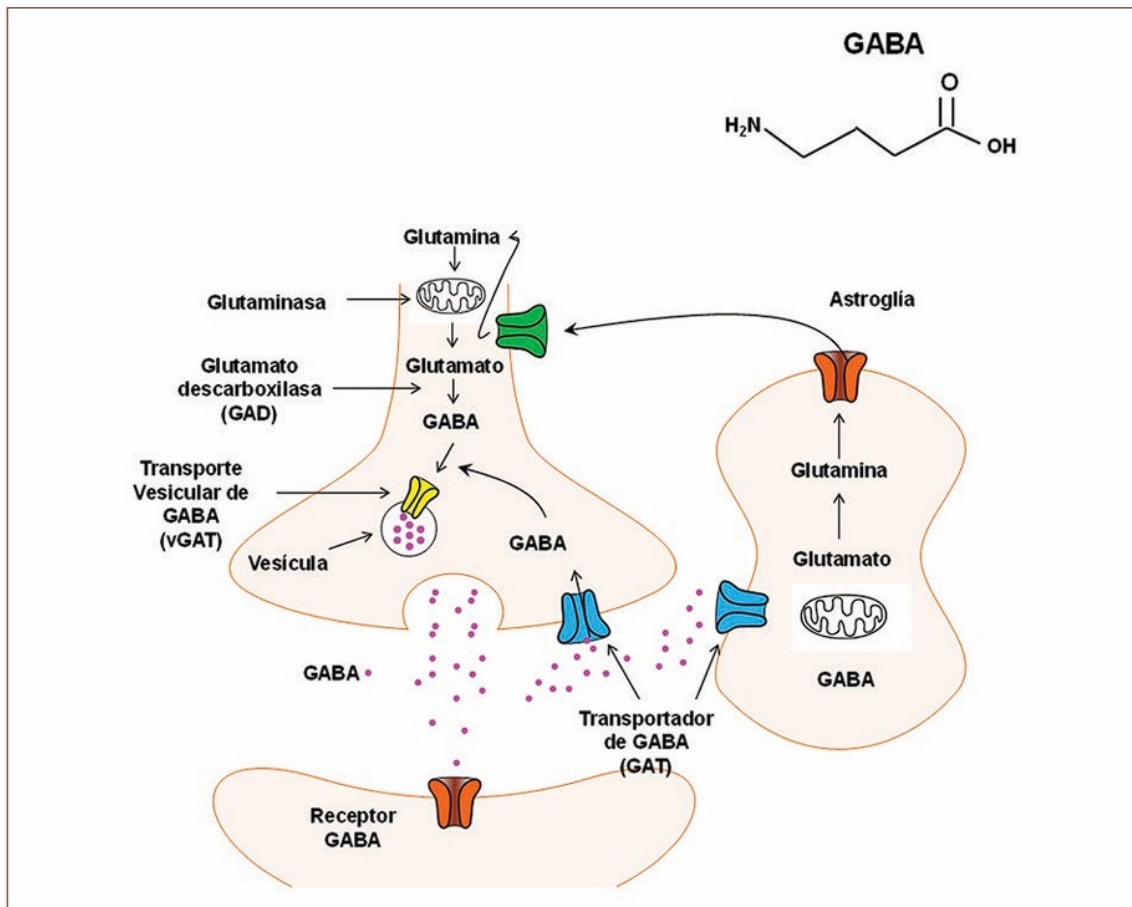


Figura 8. La síntesis de ácido gamma-aminobutírico ocurre en las terminales presinápticas. La acción de la enzima glutamato descarboxilasa (GAD), convierte el L-glutamato en GABA y CO₂ en un solo paso enzimático. Una vez sintetizado, el GABA se almacena en vesículas sinápticas y es liberado de manera dependiente de Ca⁺², tras la despolarización de la membrana presináptica a través de un proceso de exocitosis. Después de su liberación y acción, el GABA es eliminado del espacio sináptico mediante su recaptura por la neurona presináptica y la acción de los astrocitos. El catabolismo del GABA es llevado a cabo por la enzima GABA-aminotransferasa (GABA-T), que transfiere el grupo amino del GABA, produciendo α-cetoglutarato (α-KG) y semialdehído succínico. Este último es rápidamente oxidado a succinato por la enzima mitocondrial semialdehído-succínico deshidrogenasa (Modificado de Salín-Pascual *et. al.*, 2019).

El receptor GABA_A desempeña un papel crucial en la generación de las descargas espiga-onda, y en los cambios fisiológicos o en su expresión sexo-dependiente que contribuye a una mayor o menor incidencia de las DEO en modelos de crisis de ausencia (van Luijtelaar *et. al.*, 2014a). Se ha observado que los esteroides sexuales y antiepilépticos que actúan como moduladores positivos o agonistas del receptor GABA_A pueden aumentar la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia en modelos animales como son las ratas Wistar Albino Glaxo de Rijswijk (WAG/Rij) y las Ratas con Epilepsia de Ausencia Genética de Estrasburgo (GAERS) (van Luijtelaar y Bikbaev, 2007). En otras palabras, la activación general del sistema GABAérgico conlleva a un aumento en las crisis de ausencia tanto en humanos, como en los modelos en ratas con patrones electroencefalográficos del tipo descargas espiga-onda (van Luijtelaar *et. al.*, 2014a). Investigaciones actuales proponen la modulación del sistema GABAérgico como un objetivo terapéutico prometedor para nuevos tratamientos de la epilepsia de ausencia. Los cuales se están empezando a probar en humanos, donde algunos moduladores GABAérgicos han presentado resultados preliminares alentadores en el control de crisis epilépticas (Ben-Menachem *et. al.*, 2019; Löscher *et. al.*, 2020).

Descarga espiga-onda.

La actividad sincrónica del circuito tálamo-cortical se ha identificado como un elemento central en el origen de las descargas espiga-onda que caracterizan las crisis de ausencia. En otras investigaciones han señalado que esta actividad anómala puede originarse en un foco epiléptico altamente excitable ubicado en la región somatosensorial, especialmente en el área perioral, tanto en humanos, como en modelos experimentales (Crunelli y Leresche, 2002; Depaulis y Charpier, 2018). En estos modelos, las neuronas corticales tienden a mostrar un aumento en las ramificaciones dendríticas, lo cual favorece la transmisión de señales eléctricas anómalas (Elston, 2000). Alteraciones en los receptores de ácido γ -aminobutírico (GABA) y un incremento en los canales de sodio dependientes de voltaje han sido

reportados en esta región, factores que inducen un estado de hiperexcitabilidad y promueven la generación de despolarizaciones aberrantes que se transmiten al tálamo (Steriade, 2003; Wilson et. al., 1999).

En el núcleo reticular del tálamo (NRT), se han identificado también mutaciones en los canales Cav3.2 y en los receptores GABA, lo cual facilita oscilaciones rítmicas anormales (Kostopoulos, 2000). Esta actividad desencadena “rebotes” post-inhíbitorios en las neuronas tálamo-corticales, que, tras una hiperpolarización prolongada, disparan en ráfaga, proyectando estos impulsos hacia la corteza cerebral (Hernández, 2021; Lüttjohann y Van Luijtelaar, 2012; Steriade, 2003).

Esta serie de eventos establece un circuito de reverberación entre el tálamo y la corteza cerebral, y la actividad sincrónica resultante es la responsable de las descargas espiga-onda observadas en el electroencefalograma (EEG) y un estado de reposo subsiguiente, caracterizado como ondas lentas, lo cual es el reflejo de una inhibición sináptica cortical (Contreras y Steriade, 1995).

Durante una crisis de ausencia, la actividad tálamo-cortical está sujeta a una inhibición significativa por el NRT, lo que limita la transmisión de información sensorial hacia la corteza cerebral. Esto podría explicar los episodios de desconexión y pérdida de conciencia que se experimentan en este tipo de epilepsias (Contreras y Steriade, 1995; Crunelli y Leresche, 2002).

El dimorfismo sexual de las crisis de ausencia.

Diversas investigaciones han reportado diferencias significativas en cómo se manifiestan las crisis de ausencia entre machos y hembras, tanto en humanos como en modelos animales. En seres humanos, estas crisis tienden a ser más frecuentes en niñas en comparación con los niños (Durá Travé y Yoldi Petri, 2006b), lo cual ha sido documentado en estudios clínicos y epidemiológicos. Sin embargo, los modelos genéticos animales muestran una persistencia de estas crisis a lo largo de toda la vida, lo cual ofrece una oportunidad invaluable para estudiar la epilepsia en distintos contextos y fases hormonales (Jarre et. al., 2017). Estos estudios han

permitido observar cómo factores como el ciclo estral, la madurez sexual y ciertos estados hormonales, incluyendo el embarazo y la lactancia, pueden influir en la expresión de la epilepsia, especialmente en las hembras (Tolmacheva *et. al.*, 2004).

Además, en experimentos enfocados en la diferenciación sexual, se ha observado que las hembras tienen una mayor sensibilidad a las crisis de ausencia en comparación con los machos, lo cual se manifiesta en una mayor frecuencia y duración de estas crisis en modelos de epilepsia inducidos con la administración intraperitoneal de bicuculina (Burguera, 2010). Estos resultados sugieren que los factores hormonales y de desarrollo podrían desempeñar un papel importante en la intensidad y susceptibilidad a estas crisis (Fuenzalida *et. al.*, 2009).

Las hormonas sexuales también parecen ejercer efectos variados sobre las crisis de ausencia. Por ejemplo, el 17- β estradiol no modifica la frecuencia de estas crisis de ausencia en modelos de hembras WAG/Rij (van Luijtelaa *et. al.*, 2014). En cambio, nuestro equipo de investigación, al administrar progesterona a una dosis de 20 mg/Kg, obtuvo un incremento significativo en la frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas hembra (Rame, 2022).

En términos de epidemiología, existen diferencias de género en la prevalencia de ciertos síndromes epilépticos. Algunos trastornos ligados al cromosoma X, como el síndrome de Aicardi y el síndrome de Rett, son más comunes en mujeres, mientras que los síndromes de Ohtahara y Lennox-Gastaut, así como las crisis febriles, son más prevalentes en hombres (Eguibar *et. al.*, 2024; Qureshi y Mehler, 2014). Estos patrones sugieren que tanto factores genéticos como hormonales influyen en la predisposición a desarrollar ciertos tipos de epilepsia. Durante el desarrollo, los esteroides sexuales pueden modificar los circuitos neuronales, afectando la estructura y función del sistema nervioso. Esto a su vez impacta la excitabilidad neuronal y la actividad de los receptores GABA, lo cual podría contribuir a la susceptibilidad de las crisis epilépticas (Cossette *et. al.*, 2002; Eguibar *et. al.*, 2024).

La hormona como un factor regulador en la epilepsia

La redefinición de hormona que se estableció en el año 1995 incluye cualquier sustancia, independientemente de su origen o la vía de transporte que, ejerce efectos sobre otras células una vez liberada por otra célula (Clín, 2017). Con base al Consenso de Química en Ginebra, las hormonas se dividen en seis grandes grupos químicos:

1) Aminas: Estas hormonas se derivan de los aminoácidos como, por ejemplo, la tirosina o triptófano. Entre una de las más conocidas se encuentra la adrenalina o dopamina, las cuales están involucradas en la respuesta al estrés y la regulación del sistema nervioso periférico (Laurence *et. al.*, 2023). La serotonina, involucrada en la regulación del estado de ánimo, apetito y ciclos de sueño, junto con la melatonina, que controla el ritmo circadiano y el ciclo sueño-vigilia, también pertenecen a este grupo.

2) Esteroides: Las hormonas esteroides se sintetizan a partir de colesterol y se pueden agrupar en estrógenos, progestágenos, andrógenos, glucocorticoides y mineralocorticoides. La mayoría de los esteroides desempeñan funciones clave en la regulación reproductiva, metabólica, del equilibrio hidro-electrolítico y en la respuesta al estrés (Taubøll *et. al.*, 2015). Ejemplo, de ellos son el estradiol, la progesterona, la testosterona y el cortisol.

3) Péptidos: Estas hormonas están compuestas por cadenas cortas de aminoácidos. La insulina, una hormona peptídica, es crucial para la regulación de los niveles de glucosa en la sangre (Guyton y Hall, 2016). La hormona del crecimiento (GH) y la oxitocina también forman parte de este grupo de hormonas.

4) Proteínas: las hormonas proteicas están formadas por cadenas más largas de aminoácidos. Un ejemplo notable es la hormona tiroidea, que regula el metabolismo general del cuerpo (Reed, 2003).

5) Hormonas derivadas de ácidos grasos: Estas hormonas, como las prostaglandinas, se derivan de lípidos. Las prostaglandinas desempeñan un papel

importante en la inflamación, la respuesta al dolor y la regulación de la presión arterial (Ricciotti y FitzGerald, 2011).

6) Gases: Aunque menos comunes, ciertos gases como el óxido nítrico (ON) y el bióxido de carbono (CO₂) se consideran hormonas debido a su capacidad para actuar como mensajeros celulares. El ON está implicado en la vasodilatación y la regulación de la presión arterial (Clín, 2017; Moncada y Higgs, 2006).

Las hormonas como neuroesteroides.

Las hormonas esteroides, que provienen de los ovarios, testículos o las glándulas suprarrenales, se dividen principalmente en estrógenos, progestágenos, andrógenos y corticoesteroides (Gómez *et. al.*, 2012). Todas comparten una estructura básica de cuatro anillos llamada ciclo-pentanoperhidrofenantreno, que consta de tres anillos de seis carbonos cada uno (fenantreno) y de un anillo de cinco carbonos (ciclo-pentano); véase figura 9.

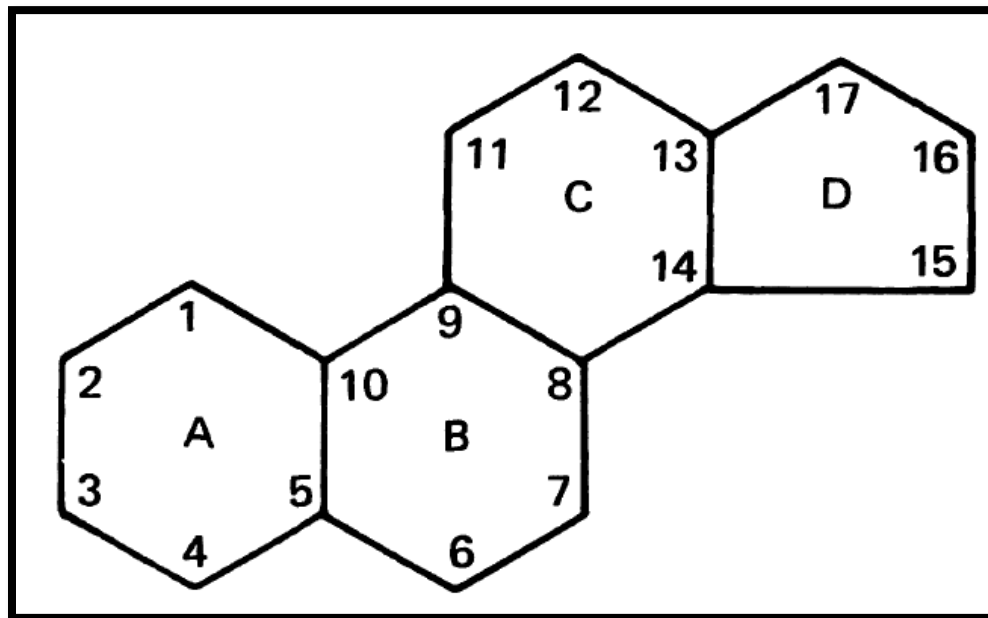


Figura 9. La estructura básica de las hormonas esteroides. Los compuestos que se derivan del ciclo pentanoperhidrofenantreno se conocen como esteroides. Note que los carbonos que conforman el núcleo de los esteroides deben ser homogéneos y se numeran de manera específica.

Las hormonas esteroideas sexuales periféricas, como el estradiol, la progesterona y la testosterona, tienen una estrecha relación entre sí, todas derivadas del colesterol (Taubøll *et. al.*, 2015). El colesterol, una vez metabolizado en progesterona, puede convertirse en androstenediona y testosterona, las cuales, a través del complejo enzimático denominado aromatización, transforman el anillo del ciclo pentanoperhidrofenantreno, resultando en la síntesis de estradiol. Por otro lado, la progesterona puede ser metabolizada por las enzimas 5α -reductasa y 3α -hidxiesteroide en alopregnanolona ($5\alpha,3\alpha$ -pregnanolona), una sustancia antiepiléptica potente (Taubøll *et. al.*, 2015). La $5\alpha,3\alpha$ -pregnanolona actúa como un modulador positivo del receptor GABA_A, aumentando la inhibición neuronal y reduciendo la excitabilidad del sistema nervioso. Este efecto es crucial para disminuir la incidencia de crisis epilépticas (Reddy, 2016). Además, tanto los estrógenos como los andrógenos juegan un papel importante en la regulación de la excitabilidad neuronal, con efectos que varían dependiendo del sexo (Taubøll *et. al.*, 2015). Se ha demostrado de manera consistente que las hormonas sexuales femeninas influyen en la excitabilidad neuronal (Taubøll *et. al.*, 2015). En general, los estrógenos tienden a aumentar la probabilidad de convulsiones, mientras que la progesterona y sus derivados tienden a tener un efecto contrario, reduciendo la probabilidad de convulsiones (Taubøll *et. al.*, 2015). Asimismo, los andrógenos, como la testosterona, desempeñan un papel importante en la actividad neuronal. Nuestro equipo de investigación demostró que la testosterona incrementa la duración de las descargas espiga-onda en las ratas *taiep* hembras o machos (Castillo, 2023).

La vía biosintética de los neuroesteroides ha sido estudiada extensamente en mamíferos y otros vertebrados, destacando cómo estas moléculas se sintetizan y metabolizan en el sistema nervioso central. La síntesis de neuroesteroides comienza con el transporte de colesterol a las mitocondrias, un proceso mediado por la proteína reguladora esteroideogénica aguda, en conjunto con la proteína translocadora (Platt *et. al.*, 2014). La enzima P450 de escisión de cadena lateral (P450_{scc}) convierte el colesterol en pregnenolona en la membrana mitocondrial interna (Tuckey y Cameron, 1993). Posteriormente, la pregnenolona se transforma

en progesterona a través de la acción de la 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β -HSD), y a partir de allí, puede ser metabolizada en alopregnanolona o pregnanolona mediante las enzimas 5α -reductasa y 3α -HSD (Penning *et. al.*, 2004). Otros metabolitos, como la androstenediona y la testosterona, se generan mediante la acción de la $P450_{c17}$ y la 17β -HSD, y estos pueden transformarse en estrona y estradiol mediante la aromatasa (Fevold *et. al.*, 1989; Osawa *et. al.*, 1993).

Además, la hidroxiesteroide sulfotransferasa (HST), una familia de enzimas que participa en la sulfatación de esteroides convierte la pregnenolona y la dehidroepiandrosterona en sus formas sulfatadas (Strott, 2002). Véase la figura 10 donde se muestra la síntesis de las hormonas.

Biosíntesis de Neuroesteroides en el Sistema Nervioso Central

La Figura 11 ilustra la biosíntesis de neuroesteroides es un proceso complejo que se lleva a cabo en diferentes tipos de células del sistema nervioso central, incluidas las células gliales, las neuronas y la glándula pineal. Inicialmente, se consideró a la glía como el principal sitio de síntesis de neuroesteroides debido a la presencia de la enzima P450_{scc}, que se localiza en la sustancia blanca del cerebro (Le Goascogne *et. al.*, 1987). En estudios posteriores, se demostró la existencia de enzimas como la 3 β -HSD, la 5 α -reductasa y la 3 α -HSD en cultivos de oligodendrocitos y astrocitos, así como en distintas regiones del cerebro relacionadas con la glía y los oligodendrocitos (Akwa *et. al.*, 1993; Melcangi *et. al.*, 1994).

Por otro lado, la presencia de enzimas esteroideogénicas en las neuronas también ha sido documentada. Investigaciones han confirmado la expresión de P450_{scc} y 3 β -HSD en las neuronas del hipocampo, la corteza y el cerebelo, sugiriendo que estas células son capaces de sintetizar neuroesteroides como la pregnenolona y la progesterona de *novo* (Guenoun *et. al.*, 1995; Mariko Usui *et. al.*, 1995) Este proceso es particularmente relevante durante el desarrollo postnatal, donde los altos niveles de progesterona y sus metabolitos juegan un papel en la maduración neuronal y la dendritogénesis (Sakamoto *et. al.*, 2001).

La glándula pineal, un órgano endocrino situado en el techo del diencefalo, también contribuye a la biosíntesis de neuroesteroides, especialmente en respuesta a estímulos lumínicos. Se ha observado que la pinealectomía en animales puede resultar en la pérdida de neuronas de Purkinje durante el desarrollo (Tunç *et. al.*, 2006). Además, en estudios con aves, se ha comprobado que la glándula pineal no solo regula los ritmos circadianos a través de la producción de melatonina, sino que también interviene en la supervivencia neuronal, promoviendo la protección de células cerebelosas durante el desarrollo (Haraguchi *et. al.*, 2012; Hatori *et al.*, 2011).

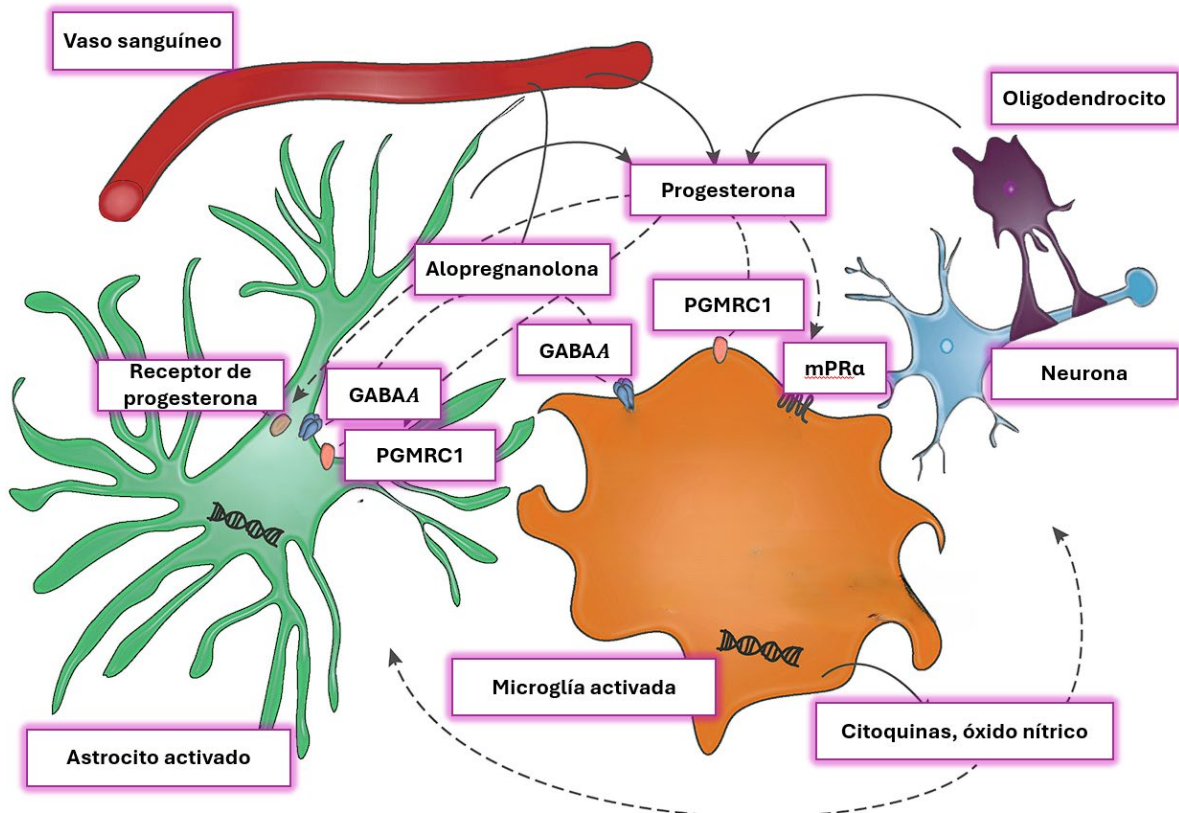


Figura 11. Representación de la biosíntesis de neuroesteroides en el sistema nervioso central, destacando la participación de astrocitos, microglía, oligodendrocitos y neuronas. La imagen muestra cómo la progesterona y la alopregnanolona son sintetizadas y actúan sobre los receptores GABA_A, los cuales son receptores ionotrópicos que median la inhibición neuronal. También se observa la participación de PGMRC1 (Receptor de Membrana de Progesterona Componente 1), que es un receptor involucrado en la señalización de la progesterona a nivel de membrana. La figura ilustra la relevancia de estos procesos en la modulación neuronal y en funciones cerebrales relacionadas con la regulación de la excitabilidad y la protección neuronal (Modificado de Yilmaz *et. al.*, 2019).

Progesterona.

La progesterona, también conocida por su acrónimo P₄, es una hormona esteroide que juega un papel fundamental en varios procesos fisiológicos, incluido el metabolismo óseo y la regulación de la excitabilidad neuronal (Brinton *et. al.*, 2008). Esta hormona está compuesta por 21 átomos de carbono y su síntesis se origina en el colesterol, que, mediante varias reacciones enzimáticas en el retículo

endoplásmico liso, se convierte en pregnenolona y luego en progesterona. Este proceso ocurre principalmente en el cuerpo lúteo del ovario y en las glándulas suprarrenales (Castellanos-Villegas *et. al.*, 2023). Véase la figura 12 donde se muestra la estructura química de la progesterona.

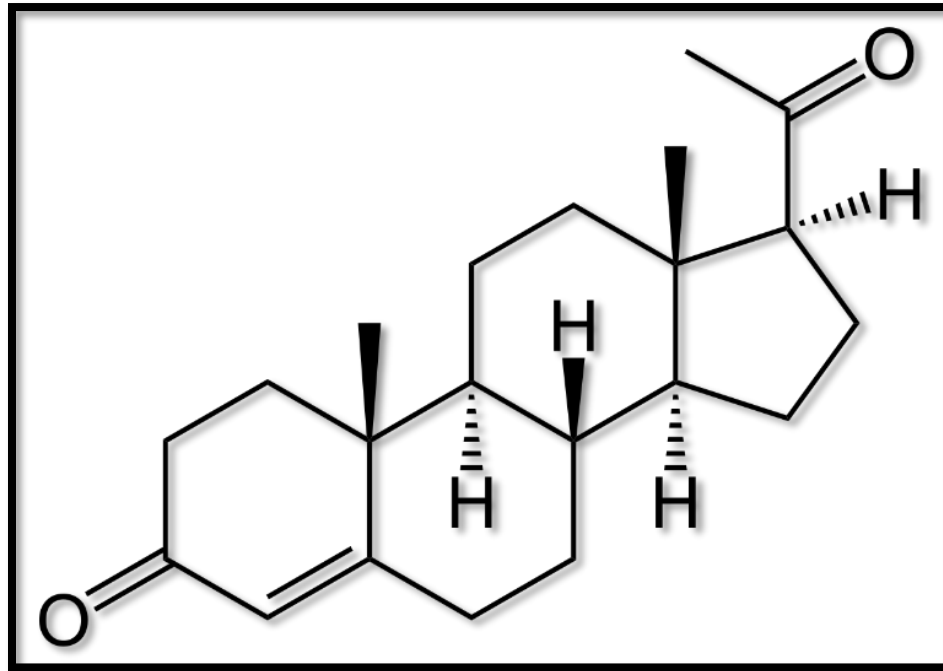


Figura 12. Estructura química de la progesterona. Está compuesta por 21 átomos de carbono organizados en un núcleo esteroide de cuatro anillos. Su configuración molecular permite una interacción específica con los receptores en el citoplasma de las células blanco, lo que facilita su transferencia al núcleo y desencadena respuestas biológicas cruciales para la función reproductiva femenina, como la preparación del útero para la implantación del embrión y el mantenimiento del embarazo.

Esta estructura le permite interactuar con diversos receptores hormonales, incluida su conversión en metabolitos activos como la $5\alpha,3\alpha$ -pregnanolona, que tiene un efecto directo en el sistema nervioso central, modulando la actividad neuronal (Taubøll *et. al.*, 2015).

La progesterona también desempeña un papel destacado en la epilepsia, particularmente en la epilepsia catamenial, un tipo de epilepsia que está influenciada por los ciclos hormonales en las mujeres (Reddy, 2016). Se ha observado que las

fluctuaciones de la progesterona a lo largo del ciclo menstrual pueden alterar la susceptibilidad a las crisis epilépticas. Durante la fase lútea del ciclo menstrual, cuando los niveles de progesterona aumentan, la frecuencia de las crisis tiende a aumentar, debido a que los efectos inhibitorios de esta hormona sobre la excitabilidad neuronal se ven reducidos (Herzog, 2008; Eguibar *et. al.*, 2024; Pennell, 2009).

La epilepsia catamenial se caracteriza por un aumento de las crisis epilépticas durante ciertas fases del ciclo menstrual, especialmente durante la fase premenstrual y en la ovulación, cuando los niveles de estrógeno son altos y los de progesterona son bajos. Los estrógenos, en contraste con la progesterona, tienen un efecto excitatorio sobre el cerebro, lo que aumenta el riesgo de crisis epilépticas. Este fenómeno es particularmente evidente en modelos animales y ha sido observado en humanos, donde la administración de estrógenos produce un incremento de la actividad epiléptica (Buterbaugh, 1989).

Por otro lado, la progesterona y su metabolito, la alopregnanolona, actúan como moduladores positivos de los receptores GABA_A, potenciando la inhibición neuronal (Belelli y Lambert, 2005a). Esta acción reduce la excitabilidad del cerebro y, por lo tanto, disminuye la probabilidad de crisis epilépticas. Sin embargo, los efectos de la progesterona no son siempre uniformes, ya que su administración en dosis altas ha mostrado, en algunos casos, un aumento inicial en las crisis seguido de una reducción, lo que es un efecto bifásico (Herzog, 2008; van Luijtelaaar *et. al.*, 2014b).

En investigaciones con seres humanos, se ha reportado que la administración diaria de 50 mg de progesterona por vía intramuscular conlleva a un aumento en las crisis de ausencia (Grünwald *et. al.*, 1992). Adicionalmente, se ha demostrado que dosis agudas de estrógenos incrementan la actividad epiléptica mediada por pentilinetetrazol (Buterbaugh, 1989).

En otros estudios se ha demostrado que los niveles naturales de progesterona en el cuerpo tienen un impacto significativo en la frecuencia de las crisis epilépticas generalizadas (Van Luijtelaaar, 2009). Esto se debe a los efectos inhibidores de la progesterona en la excitabilidad neuronal y su capacidad para modular al receptor

GABA_A, prolongando la apertura del canal de Cl⁻ e incrementando la magnitud de la inhibición neuronal (van Luijtelaar *et. al.*, 2014a).

En ratas hembra WAG/Rij, se ha observado un aumento en las crisis de ausencia cuando los niveles de progesterona superan los niveles basales, durante el ciclo estral como posterior a la ovariectomía, la cual reduce los niveles de progesterona y estradiol (van Luijtelaar *et. al.*, 2014a). En un estudio donde administraron 20 mg/Kg de progesterona agudamente reportaron un aumento inicial en las crisis de ausencia, seguido de una disminución, lo que fue atribuido a la acción de la progesterona o su metabolito, la 5 α ,3 α -pregnanolona, como un modulador positivo del receptor extrasináptico GABA_A (Van Luijtelaar, 2009).

La alopregnanolona.

La alopregnanolona es un neuroesteroide natural derivado de la progesterona, que actúa como un potente modulador alostérico positivo de los receptores para el ácido gamma-aminobutírico tipo A (GABA_A) en el sistema nervioso central (SNC; Brunton *et. al.*, 2014). Aunque inicialmente se estableció su papel en la regulación de la función reproductiva, (Beyer *et. al.*, 1995) demostraron que la 5 α ,3 α -pregnanolona, es más potente que P₄. Investigaciones recientes han revelado su implicación en una variedad de funciones neuronales, incluida su participación en la regulación de la excitabilidad neuronal y la modulación de la neurotransmisión inhibitoria (Brunton *et. al.*, 2014). Véase la figura 13 para una representación de la síntesis de la alopregnanolona a partir de la progesterona.

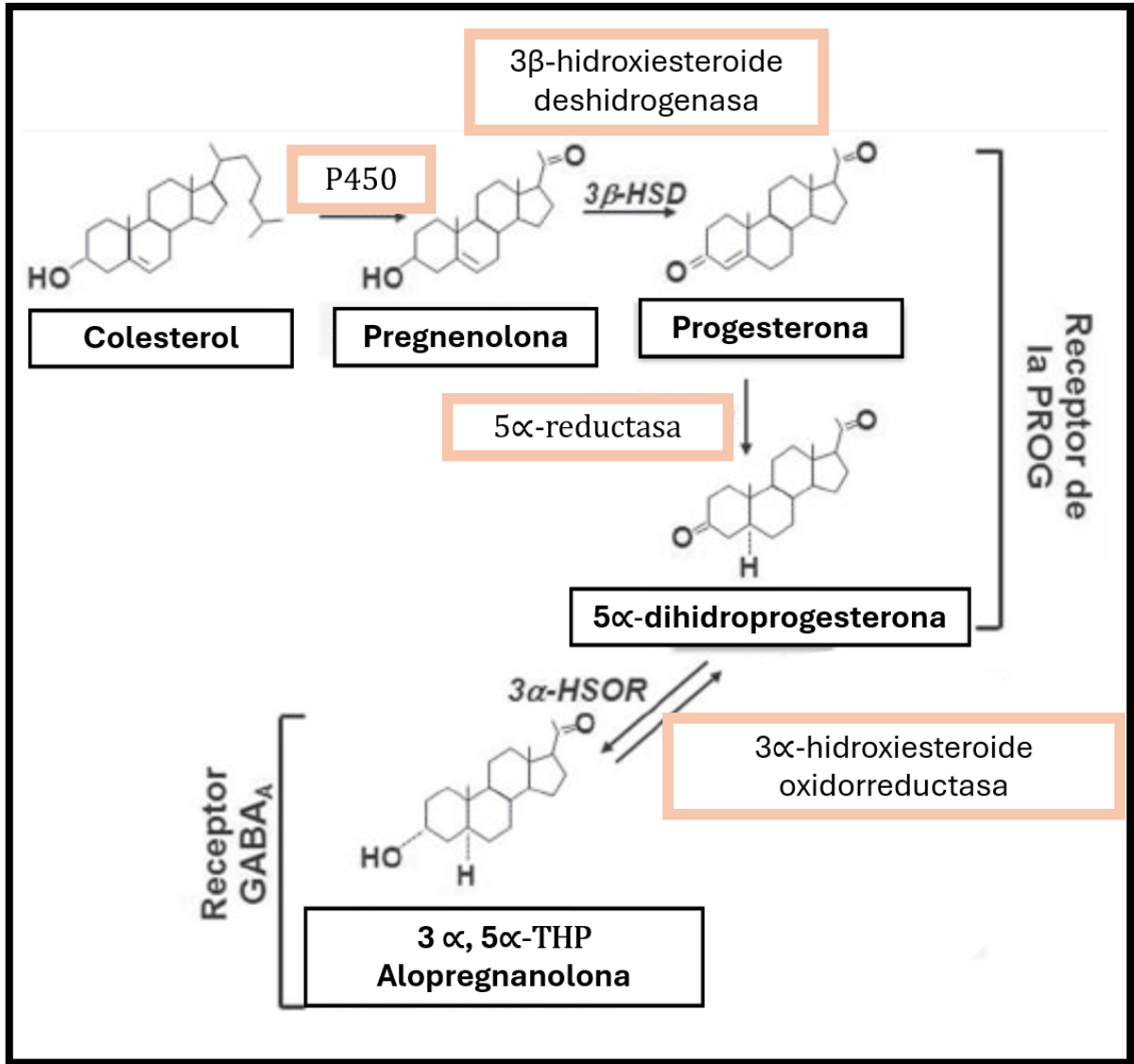


Figura 13. Síntesis de alopregnanolona a partir de progesterona. Note el proceso enzimático clave para la biosíntesis de neuroesteroides en el sistema nervioso central, con efectos locales significativos en los circuitos moleculares específicos.

Los receptores GABA_A son cruciales en la modulación de la actividad neuronal, ya que, cuando se activan, permiten la entrada de iones cloruro, hiperpolarizando así la membrana celular y reduciendo la excitabilidad neuronal (Olsen y Sieghart, 2008). La alopregnanolona potencia la acción del GABA al prolongar el tiempo de apertura de los canales iónicos de cloruro, lo que lleva a una mayor inhibición neuronal (Belelli y Lambert, 2005)

La alopregnanolona no sigue la vía convencional de acción de los esteroides intracelulares, como el receptor hormonal de la progesterona (P_4); sino que lo hace a través de los receptores $GABA_A$ presentes en la membrana neuronal (Brunton *et al.*, 2014; Follesa *et al.*, 2001).

Aunque no está completamente claro dónde se une exactamente la alopregnanolona en estos receptores, se sabe que su acción es diferente de otros compuestos como el GABA mismo o de otros neuromoduladores como son; las benzodiazepinas, los barbitúricos y la picrotoxina, como se muestra en la figura 14. Su efectividad en la reducción de la excitabilidad neuronal depende de la composición específica de las subunidades del receptor.

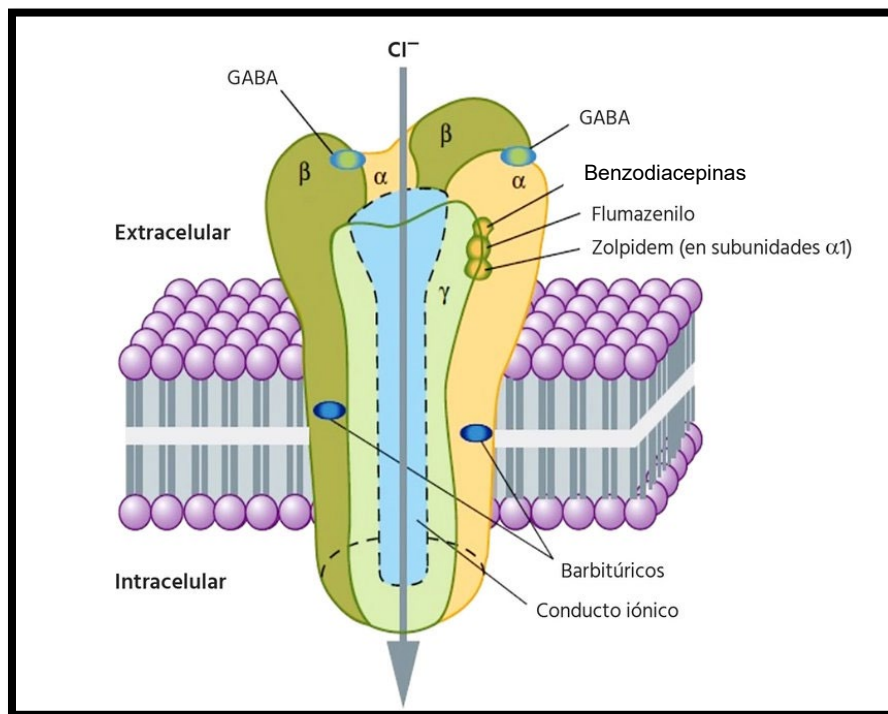


Figura 14. Sitio de unión de los ligandos del receptor ácido gamma-aminobutírico tipo a ($GABA_A$). Este receptor es un canal iónico activado por ligando, compuesto por subunidades de tipo α , β y γ , que se encuentran en la membrana neuronal. El GABA se une a los sitios entre las subunidades α y β , lo que permite la entrada de iones cloruro (Cl^-) y genera un efecto inhibitorio en la neurona. Las benzodiazepinas, el flumazenil y el zolpidem se unen en la interfase de las subunidades α y γ , modulando la actividad del receptor. Por otro lado, los barbitúricos actúan en un sitio distinto dentro del canal iónico, potenciando la acción del GABA.

Estos receptores GABA_A median dos formas de neurotransmisión inhibitoria: la inhibición fásica en las sinapsis y la inhibición tónica en los sitios extrasinápticos. La inhibición fásica ocurre cuando los niveles intermitentemente altos de GABA liberados en las sinapsis causan una respuesta inhibitoria transitoria. Por otro lado, la inhibición tónica se produce con niveles bajos continuos de GABA "ambiente" que actúan en receptores extrasinápticos, generando una inhibición constante (Brunton *et. al.*, 2014; Follesa *et. al.*, 2001).

La alopregnanolona tiene la capacidad de modular tanto la inhibición fásica como la tónica en las neuronas GABAérgicas, lo que reduce la excitabilidad neuronal. Esta acción es clave para sus efectos terapéuticos, ya que aumenta la actividad inhibitoria en el sistema nervioso central, mitigando los síntomas de la depresión posparto al restaurar el equilibrio entre la excitación e inhibición neuronal (Brunton *et. al.*, 2014).

La relación entre la 5 α ,3 α -pregnanolona y las crisis de ausencia ha sido objeto de interés en la investigación neurocientífica. Se ha sugerido que la disminución de los niveles de alopregnanolona puede estar asociada con la aparición de crisis de ausencia (Löscher y Rogawski, 2012). Estudios en modelos animales han demostrado que la administración de alopregnanolona puede tener efectos anticonvulsivantes, lo que sugiere un posible papel terapéutico en el tratamiento de las crisis de ausencia (Balan *et. al.*, 2019).

La comprensión de la función de la alopregnanolona en la regulación de la excitabilidad neuronal y su relación con las crisis de ausencia tiene implicaciones importantes para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de la epilepsia y de otros trastornos neurológicos relacionados con la hiperexcitabilidad neuronal.

El 17- β -estradiol y su rol en la reproducción.

Los estrógenos, particularmente el 17 β -estradiol, (véase la figura 15 donde se muestra su estructura química), son hormonas fundamentales en el cerebro,

particularmente durante la diferenciación sexual, y ejercen también importantes efectos en el sistema nervioso central (SNC) al activar a sus receptores específicos. Estas hormonas, derivadas de andrógenos por la acción de la enzima aromatasa, pueden influir tanto a nivel genómico intracelular como a través de mecanismos de receptores de membrana presentes en las neuronas y en las células gliales (García-Segura *et. al.*, 1999). La relación entre los estrógenos y la excitabilidad neuronal ha sido objeto de investigación desde hace más de un siglo y medio (Beyer *et. al.*, 1995). Se han observado variaciones en las crisis epilépticas durante el ciclo menstrual, así como un incremento en los trastornos menstruales en mujeres con epilepsia, lo que sugiere una posible influencia de los estrógenos en la epilepsia (Bäckström, 1990).

En estudios realizados en animales han demostrado que el 17β -estradiol, desempeña un papel crucial en el crecimiento y la diferenciación de axones y dendritas; así como en la formación de sinapsis durante el desarrollo cerebral (Woolley y McEwen, 1994) participando en la sinaptogénesis, lo que puede afectar la excitabilidad neuronal y contribuir a la generación de crisis de ausencia (Wei *et. al.*, 2014).

En modelos animales de epilepsia, se ha observado que la administración aguda de 17β -estradiol aumenta el número de crisis tónico-clónicas. Sin embargo, este efecto parece ser más pronunciado durante la fase del proestro, cuando los niveles de 17β -estradiol son naturalmente elevados (Wei *et. al.*, 2014).

Los resultados de los estudios sobre los efectos de los estrógenos en las crisis epileptiformes pueden variar dependiendo de diversos factores, como son la duración del tratamiento, las dosis administradas, el estado hormonal y el modelo animal empleado. Pero son escasos los estudios que han evaluado los efectos de los estrógenos en modelos genéticos específicos de crisis de ausencia, lo que sugiere la necesidad de investigaciones adicionales en este campo de investigación (Scharfman, 2007).

En el contexto de la epilepsia catamenial, que afecta a mujeres en determinadas fases del ciclo menstrual, los estrógenos juegan un papel importante. Se ha

observado que el aumento en los niveles de 17β -estradiol durante el ciclo menstrual correlaciona con un aumento en la frecuencia de las crisis, mientras que la progesterona tiene un efecto modulador y protector, reduciendo la excitabilidad neuronal (Herzog, 2008). En estudios clínicos, la epilepsia catamenial es más frecuente en mujeres con niveles fluctuantes de estrógenos, este hecho resalta la interacción compleja entre las hormonas sexuales y la epilepsia (Herzog, 2008).

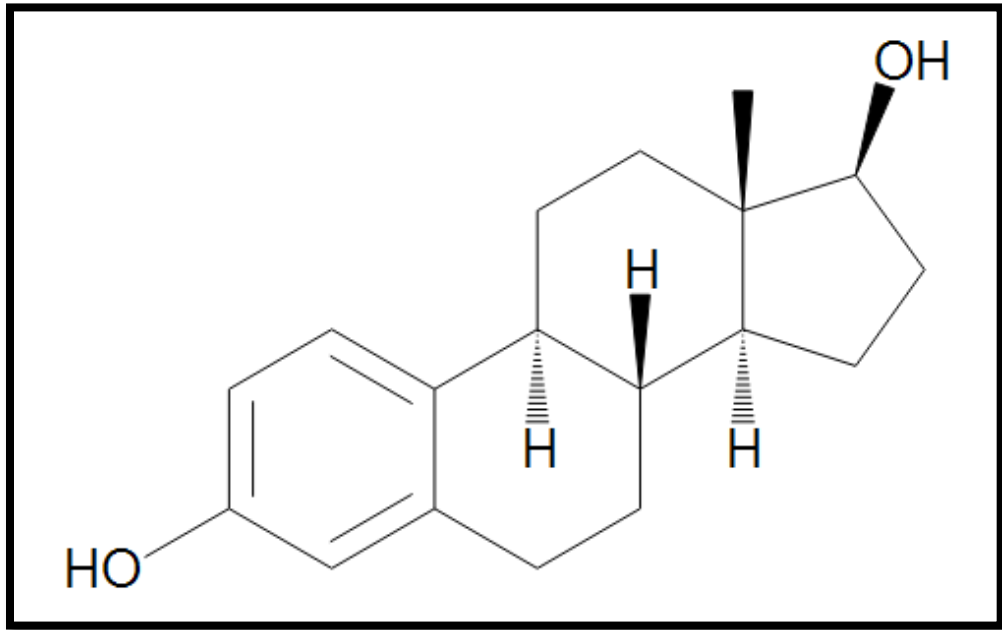


Figura 15. Estructura química del 17β -estradiol, una hormona esteroide esencial para la regulación de varias funciones en el cuerpo, incluyendo la diferenciación sexual y la reproducción. Esta molécula tiene un núcleo de anillos fusionados, con grupos hidroxilo (-OH) en las posiciones C3 y C17, que son responsables de su potente acción como estrógeno en los tejidos objetivo, incluidos el cerebro y el sistema reproductivo.

Modelos animales de crisis de ausencia.

La rata albina denominada epilepsia de ausencia de Estrasburgo, Francia de sus siglas en inglés (GAERS).

La rata GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg Francia) es uno de los modelos utilizados para el estudio de la epilepsia de ausencia, debido a sus características, que reflejan aspectos clave de esta patología en humanos.

Las ratas GAERS presentan DEO con una frecuencia de 7 a 11 Hz, como se muestra en la figura 16, asociadas con interrupciones del comportamiento, mirada fija y movimientos espasmódicos de las vibrisas, finalizando abruptamente con un EEG normal (Marescaux y Vergnes, 1995; Vergens *et. al.*, 1984).

Este modelo ha mostrado un incremento en la inhibición mediada por los receptores GABA_A tónicos en las neuronas tálamo-corticales del área ventrobasal del tálamo, lo que se atribuye a un aumento en la concentración de GABA extracelular debido a una disfunción en su recaptura por los astrocitos (Crunelli *et. al.*, 2015). Adicionalmente, se ha identificado una mutación homocigótica recesiva en el gen *Cav3.2*, que codifica para el canal de calcio tipo T, en el cromosoma 10q12, junto con otras mutaciones poligénicas en los genes 4, 7 y 8 (Serikawa *et. al.*, 2015; Vergens *et. al.*, 1984).

Desde una perspectiva farmacológica, las ratas GAERS responden a los fármacos antiepilépticos de manera similar a los pacientes humanos (Marescaux *et. al.*, 1992). Medicamentos como la etosuximida, el ácido valproico, el topiramato y el levetiracetam disminuye eficazmente las crisis de ausencia, mientras que fármacos que actúan como agonistas del receptor GABA_A tienden a empeorarlas (Depaulis y Charpier, 2018).

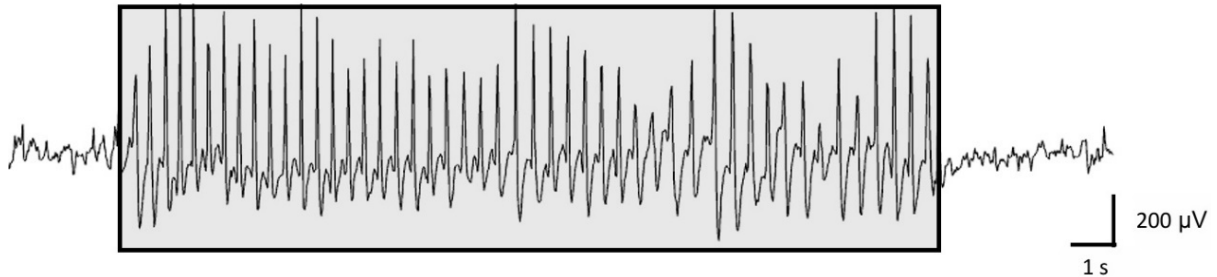


Figura 16. Registro encefalográfico en una rata GAERS en la corteza durante una descarga espiga-onda. Se destaca en gris la crisis de ausencia, identificada por el patrón espiga-onda característico, durante la crisis de ausencia el animal permaneció quieto y aislado del medio ambiente.

Las ratas Wistar Albino Glaxo de Rijswijk de los países bajos (WAG/Rij).

Se describieron dos tipos de descargas espiga-onda en estas ratas. El primer patrón, con una frecuencia de 7.5 a 9.5 Hz (véase la figura 17) y espigas de polaridad positiva, tiene una duración de 3 a 4 segundos y se presenta tanto durante el sueño como en la vigilia (Coenen y Van Luijtelaar, 2003a). Estas crisis son similares a las crisis de ausencia típicas en humanos, ya que se acompañan de pérdida de conciencia y alteración conductual (Coenen y Van Luijtelaar, 2003). Por otro lado, el segundo tipo de descarga se caracteriza por una frecuencia de 8 Hz, espigas de polaridad negativa y una duración de un segundo, siendo predominantemente cortical y sin cambios conductuales evidentes, lo cual es comparable a las crisis de ausencia atípicas (Serikawa *et. al.*, 2015; van Luijtelaar y Coenen, 1986).

En las ratas WAG/Rij, las crisis de ausencia suelen iniciarse entre los 3 y 4 meses de edad, sin diferencias significativas entre los sexos. Un aspecto relevante de este modelo es la disminución de los receptores GABA_A fásicos en la corteza somato sensitiva, lo que se asocia con una mutación en la subunidad $\gamma 2$ del receptor GABA_A, similar a lo observado en leucocitos de pacientes humanos con crisis de ausencia (Pirttimaki *et. al.*, 2013; Wallace *et. al.*, 2001).

Las ratas WAG/Rij, no muestran diferencias significativas entre machos y hembras en cuanto a la frecuencia de estas descargas, lo que limita la exploración de cómo

las hormonas sexuales influyen en estas crisis. Sin embargo, la administración de alopregnanolona ha mostrado un aumento en la frecuencia y duración de las crisis de ausencia (Karabulut *et. al.*, 2018). Por otro lado, el uso de ganaxolona, un análogo sintético de la alopregnanolona, incrementa las crisis de ausencia, variando su efecto según la vía de administración. Además, la ovariectomía en ratas hembra provoca un incremento en la frecuencia y duración de estas descargas (Kovács *et. al.*, 2017).

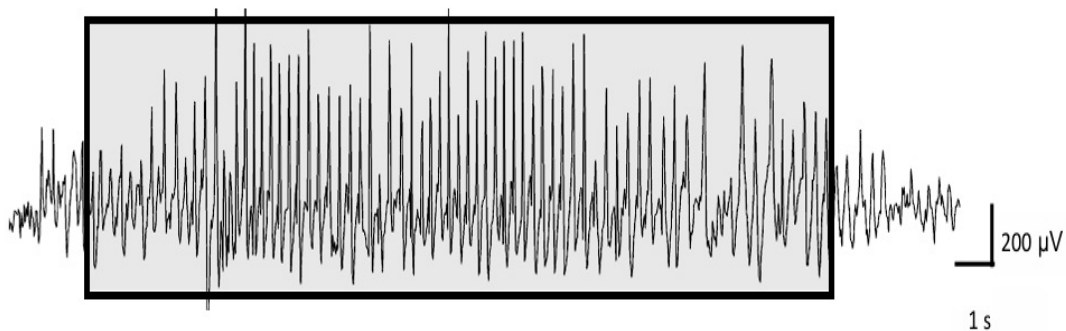


Figura 17 Registro encefalográfico de una rata WAG/Rij durante una descarga del tipo de ausencia. Característica del patrón en las descargas espiga-onda, identificado en la sección sombreada en gris. Este patrón presenta una frecuencia de 7 a 10 Hz, con alternancia de espigas y ondas, lo cual es típico de las crisis de ausencia. Durante el evento, el animal permaneció inmóvil y mostró una desconexión temporal del entorno, lo que se correlaciona con la actividad registrada (Modificado de Kovács *et. al.*, 2014).

La rata *taiep*; como un modelo de crisis de ausencia.

En el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, se obtuvo una sublínea de las ratas Sprague-Dawley denominada *taiep*, a partir de una mutación espontánea en el proceso de cruzamiento endogámico (hermanos con hermanos) para obtener una sublínea de rata con alta frecuencia de bostezo (Urbá-Holmgren *et. al.*, 1990). La denominación *taiep* es el acrónimo a las características neurológicas motoras progresivas que aparecen en estas ratas: temblor, ataxia, inmovilidades, epilepsia y parálisis del tren posterior a partir de los 12 meses de edad (Cortés *et. al.*, 2005; Eguibar *et. al.*, 2010b; Holmgren *et. al.*, 1989). Este

modelo exhibe una hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva en el sistema nervioso central (Lunn *et. al.*, 1997). La Figura 18 muestra estudios de imágenes cerebrales con resonancia magnética que confirman la hipomielinización en el cuerpo calloso, junto con ventriculomegalia y atrofia del cerebelo y del núcleo caudado, similar a lo observado en los pacientes humanos con hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo (H-ABC) (Garduno-Robles *et al.*, 2020a).

La patología que presenta la rata *taiep*, sigue un patrón genético autosómico recesivo (Holmgren *et. al.*, 1989). A nivel ultraestructural, se ha reportado una acumulación de microtúbulos en el citoplasma y en los procesos de los oligodendrocitos, particularmente unidos al retículo endoplásmico rugoso, lo cual sugiere un defecto en el transporte intracelular en estas células gliales (Couve *et. al.*, 1999; Song *et. al.*, 1999). Las principales proteínas de la mielina, como la proteína básica de mielina (MBP), la proteína proteolipídica (PLP) y la proteína asociada a la oligodendroglía (MOBP), muestran una reducción significativa con el tiempo (Möller *et. al.*, 1997) y una disminución progresiva de los lípidos.

Las ratas *taiep* presentan una progresiva desmielinización de los tractos nerviosos centrales de mielinización como las columnas dorsales y el tracto corticoespinal (Lunn *et. al.*, 1997). De hecho, recientemente, el modelo ha sido propuesto como análogo de la leucodistrofia humana llamada hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo (H-ABC Alata *et. al.*, 2021). Mediante el estudio de imágenes cerebrales con resonancia magnética, se ha confirmado la hipomielinización en el cuerpo calloso, acompañada de ventriculomegalia y atrofia del cerebelo y del núcleo caudado, similar a lo observado en los pacientes humanos con H-ABC (Garduno-Robles *et. al.*, 2020a). La mutación específica en la rata *taiep* se encuentra en el exón 4B del gen para la tubulina β 4A (TUBB4A), que cambia un aminoácido de alanina a treonina en la posición 302 (Garduño-Robles *et. al.*, 2020b).

A nivel electrofisiológico, se ha demostrado que las ratas *taiep* presentan descargas espiga-onda (DEO) en la corteza cerebral con una frecuencia principal de 6.25 Hz,

similar a otros modelos de epilepsia de ausencia como las ratas WAG/Rij y GAERS (Eguibar *et. al.*, 2010; Eguibar *et. al.*, 2024).

Desde el primer mes de vida, las ratas *taiep* presentan un temblor de 14 Hz, que disminuye con la edad. La ataxia se hace evidente a los dos meses, mientras que los episodios de inmovilidad tienen un pico máximo entre los 8 y 9 meses de edad, siendo más frecuentes en machos que en hembras (Cortés *et. al.*, 2005).

Los episodios de inmovilidad pueden ser espontáneos o inducidos al manipular a las ratas por la cola o el tórax. Estos episodios se caracterizan electroencefalográficamente por ritmo de tipo β , con una frecuencia promedio de 13 Hz en la corteza cerebral, y un ritmo de tipo theta en el hipocampo, asociados a pérdida del tono muscular similar a la que se presenta en el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR Cortés *et. al.*, 2005), por lo que es semejante a lo que se ha descrito en la narcolepsia-cataplejía humana, un trastorno del sueño MOR (Cortés *et. al.*, 2005).

En cuanto a la epilepsia, (Holmgren *et. al.*, 1989) un 6.25% de las ratas *taiep* de 2 a 6 meses de edad presentaban crisis epilépticas inducidas por sonido (audiogénicas), pero este porcentaje aumentaba hasta un 62.5% en las ratas de 12 meses *taiep* macho (Holmgren *et. al.*, 1989). Por otra parte, en estudios de nuestro laboratorio confirmaron que la rata *taiep* es un modelo de crisis de ausencia, mostrando descargas espiga-onda en la corteza cerebral con una frecuencia de 6.25 Hz, acompañadas de pérdida de contacto con el entorno y un marcado dimorfismo sexual, ya que los machos las presentan a los 3 meses y las hembras a los 6 meses (Eguibar y Cortes, 2010).

Las descargas espiga-onda en ratas *taiep*, oscilan entre 4 y 8 Hz, se asemejan a la de otros modelos genéticos de crisis de ausencia. Sin embargo, presentan un marcado dimorfismo sexual, ya que la frecuencia de estas descargas y la severidad de las mismas son mayores en machos que en hembras (Eguibar y Cortes 2010).

En estudios sobre el papel de los andrógenos en las crisis de ausencia de la rata macho, se obtuvo que la orquiectomía neonatal en ratas *taiep* redujo

significativamente la incidencia de DEO a lo largo del ciclo circadiano; mientras que la orquiectomía en la edad adulta incrementó la frecuencia de estas descargas (Cortes *et. al.*, 2023). Adicionalmente la administración sistémica de propionato de testosterona en ratas *taiep* orquiectomizadas adultas no produjo un incremento significativo en la frecuencia de las DEO (Castillo, 2023), por lo que se requieren más investigaciones para aclarar el papel de los andrógenos en la incidencia y duración de las crisis de ausencia (Castillo, 2023).

Las similitudes entre las ratas *taiep* y los pacientes humanos con H-ABC no solo refuerzan la relevancia de este modelo en el estudio de la epilepsia del tipo crisis de ausencias, sino que también brindan una oportunidad para explorar el impacto de la desmielinización en otros trastornos neurológicos, incluyendo la epilepsia y los trastornos del neurodesarrollo (Eguibar *et. al.*, 2021; Garduno-Robles *et. al.*, 2020).

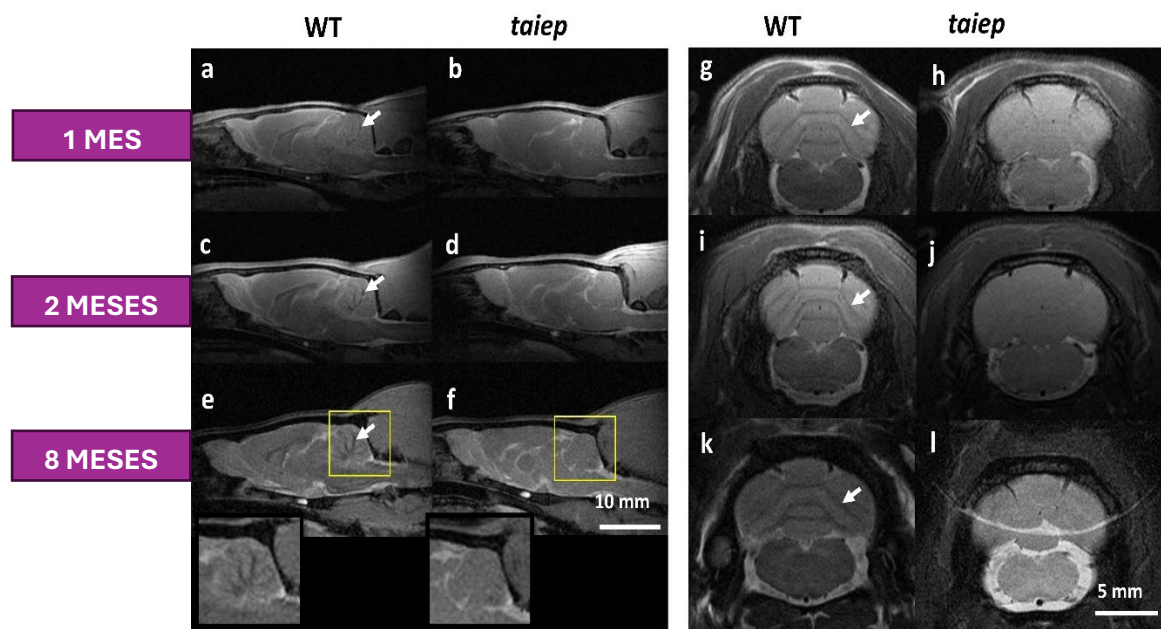


Figura 18. Resonancia magnética de una rata Sprague-Dawley y una rata *taiep*. Imágenes de resonancia magnética de 7 teslas ponderadas en T2 del cerebelo en ratas *taiep* y Sprague-Dawley a los 1, 2 y 8 meses de edad. Las imágenes incluyen vistas sagitales (a-f) y coronales (g-l). Se observan diferencias en la señal de la materia blanca (flechas), lo que indica una hipomielinización progresiva en las ratas *taiep* en comparación con el patrón normal. Las vistas sagitales ampliadas a los 8 meses (e, f) muestran una disminución de la intensidad de la señal en la rata *taiep*. (Garduno-Robles *et. al.*, 2020a).

4.-ANTECEDENTES

Las crisis de ausencia se definen como un tipo de epilepsia generalizada idiopática caracterizada por episodios de pérdida de conciencia y actividad eléctrica anormal en las neuronas, lo que puede manifestarse en cambios en la atención y comportamiento (Fisher *et. al.*, 2014). Estos episodios, conocidos como descargas espiga-onda (DEO), se presentan como breves episodios paroxísticos, súbitos y recurrentes, siendo los más comunes en la infancia y el 66% remite en la pubertad (MacAllister y Schaffer, 2007; Panayiotopoulos, 2010).

Durante años, se han realizado esfuerzos importantes para tratar dicho padecimiento. Los medicamentos como la etosuximida, el valproato de sodio y la lamotrigina ha demostrado eficacia en el control de las DEO en la rata *taiep* (Eguibar y Cortes, 2010). No obstante, a pesar de su efectividad, estos medicamentos pueden causar efectos secundarios indeseables, lo que subraya la necesidad de seguir investigando compuestos alternativos que puedan ofrecer un mejor control de las crisis con un perfil de seguridad más favorable (Eguibar *et. al.*, 2024).

Por esta razón, la investigación actual busca desarrollar nuevas opciones terapéuticas con un mejor perfil de seguridad. En este contexto, los modelos animales, como la rata *taiep*, se han convertido en una herramienta valiosa para probar la eficacia de compuestos alternativos, incluyendo neuroesteroides, debido a su potencial para regular la actividad neuronal a través de los receptores GABA_A (Eguibar *et. al.*, 2010).

Mecanismo de acción de progesterona y la alopregnanolona.

La progesterona ejerce su acción en el cerebro a través de dos mecanismos principales: el genómico y el no genómico. En el mecanismo genómico, la progesterona se une a los receptores nucleares de progesterona (PR), específicamente a los subtipos PR-A y PR-B, que se encuentran en el citoplasma de las células neuronales. Estos receptores, que pertenecen a la superfamilia de receptores de esteroides, son sintetizados en el retículo endoplásmico rugoso y

permanecen inactivos hasta que la progesterona se une a ellos. La unión activa a los receptores, provocando un cambio conformacional que permite su translocación al núcleo, donde se asocian a elementos de respuesta en el ADN. Esto promueve la transcripción de genes específicos, como la proteína precursora de la mielina (MBP) y otras proteínas relacionadas con la señalización celular y la plasticidad sináptica (Falkenstein *et. al.*, 2000; Kapur y Joshi, 2021). Por otro lado, en el mecanismo no genómico, la progesterona y sus metabolitos, como la alopregnanolona, interactúan con receptores de membrana de progesterona (mPRs) y con receptores GABA tipo A en la membrana celular. Los mPRs, que pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G, median respuestas rápidas, modulando la señalización intracelular, mientras que la alopregnanolona actúa directamente sobre los receptores GABA_A, incrementando la inhibición sináptica y reduciendo la excitabilidad neuronal (Majewska *et. al.*, 1986; Zhu *et.al.*, 2003).

En los efectos membranales, la progesterona también induce cambios en la señalización de proteínas G y regula los niveles intracelulares de monofosfato de guanosa cíclico (GMPc de sus siglas en inglés), lo que influye en la excitabilidad neuronal (Frye, 1995). La alopregnanolona, por su parte, es un modulador alostérico positivo del receptor GABA_A, lo que incrementa la función inhibitoria de estas neuronas, particularmente en aquellas que expresan la subunidad δ , predominante en el hipocampo. Este mecanismo muestra un papel neuroprotector de la alopregnanolona en esta región del cerebro, ya que prolonga la inhibición neuronal y reduce la probabilidad de disparos neuronales aberrantes (Kapur y Joshi, 2021).

Adicionalmente, la alopregnanolona es un metabolito de la progesterona con efectos inhibitorios en la neurotransmisión GABAérgica, lo que refuerza su papel en la modulación de la actividad neuronal. Por otro lado, algunos metabolitos sulfatados de la progesterona tienen efectos opuestos, ya que suprimen la neurotransmisión GABAérgica y pueden aumentar la excitabilidad del sistema nervioso (Frye, 1995; Joshi y Kapur, 2019). La progesterona también interactúa directamente con los receptores de glutamato tipo α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato

(AMPA), lo que incrementa la excitabilidad y la transmisión glutamatérgica en el cerebro (Frye, 1995).

Durante la fase lútea del ciclo menstrual, cuando los niveles de progesterona y alopregnanolona son más altos, se observa una inhibición GABAérgica máxima, lo que potencialmente ofrece una mayor protección contra las crisis epilépticas. Sin embargo, al disminuir estos niveles en el período perimenstrual, la excitabilidad neuronal se incrementa, lo cual puede desencadenar un aumento en las crisis epilépticas, un fenómeno conocido como epilepsia catamenial (Frye, 1995; Joshi y Kapur, 2019; Kapur y Joshi, 2021b).

La tubulinopatía hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo en la rata *taiep*.

La hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC) es una leucodistrofia que forma parte de las tubulinopatías, un grupo de enfermedades caracterizadas por mutaciones en los genes que afectan las proteínas denominadas tubulinas que forman parte del citoesqueleto huso mitótico, esenciales para la estructura y función celular en el sistema nervioso (Van Der Knaap *et. al.*, 2002). La H-ABC se debe a una mutación en el gen TUBB4A, que codifica para la tubulina- β -4a, una proteína clave en los oligodendrocitos, las células encargadas de la mielinización en el sistema nervioso central (Simons *et. al.*, 2013).

Desde el punto de vista clínico, esta condición se manifiesta con una combinación de síntomas como espasticidad, distonía, coreoatetosis, ataxia y temblor de intención, reflejando la afectación de varias áreas cerebrales (Krajka *et. al.*, 2022). Adicionalmente, se han documentado déficits sensoriales significativos, como problemas visuales y auditivos, que suelen comenzar desde la infancia y progresan con la edad de los pacientes (Ashrafi *et. al.*, 2020).

Las imágenes por resonancia magnética (IRM) de pacientes con H-ABC muestran signos característicos, como son una hipomielinización cerebral, principalmente en

el cuerpo caloso, la cápsula interna y el cerebelo. También se ha reportado atrofia en los ganglios basales, afectando en mayor medida al putamen, mientras que el tálamo y el globo pálido generalmente no presentan cambios significativos, lo cual ayuda a diferenciar esta enfermedad de otras leucodistrofias (Simons *et. al.*, 2013).

La rata *taiep* comparte características clínicas similares a las observadas en pacientes con H-ABC, como son: el temblor, la ataxia y los déficits sensoriales. Este modelo ofrece una perspectiva única para la investigación de la fisiopatología de las crisis de ausencia, así como para la evaluación de nuevas terapias antiepilépticas, dada la respuesta a diferentes tratamientos farmacológicos, lo que lo convierte en una herramienta fundamental para comprender y abordar la epilepsia de ausencia de manera integral (Eguibar *et. al.*, 2024).

5.-JUSTIFICACIÓN.

Las crisis de ausencia representan un problema importante de salud pública, especialmente debido a su alta prevalencia en la infancia y su impacto en la calidad de vida de los pacientes, al estar asociadas con déficit cognitivo y de aprendizaje (Fisher *et. al.*, 2017). A pesar de los avances en el tratamiento de la epilepsia, en promedio, un 33% de los casos sigue siendo farmacorresistente, lo que subraya la necesidad de explorar nuevas estrategias terapéuticas (Eguibar *et. al.*, 2024). La farmacorresistencia es particularmente desafiante, ya que estos pacientes tienen una mayor predisposición de desarrollar otras formas de epilepsia y trastornos neuropsiquiátricos, como depresión y ansiedad (Kwan y Brodie, 2000). Estudios recientes, como el de Tang *et. al.*, 2017, han reportado, casos de epilepsia de ausencia farmacorresistente, hasta en un 60% de los pacientes que necesitan múltiples medicamentos antiepilépticos para intentar controlar las crisis. Sin embargo, el uso de varios fármacos incrementa significativamente el riesgo de efectos secundarios, afectando de forma negativa su calidad de vida (Tang *et. al.*, 2017).

Los esteroides sexuales, como la progesterona y su metabolito alopregnanolona, se consideran potenciales moduladores de la epilepsia de ausencia, ya que participan

en la regulación de la neurotransmisión GABAérgica, un componente crucial en la generación de las descargas espiga-onda (Majewska *et. al.*, 1986). Estas hormonas experimentan fluctuaciones significativas durante el ciclo menstrual, el embarazo y la menopausia, lo cual puede influir directamente en la actividad epileptiforme en diferentes etapas de la vida (Kennedy y Chen, 2019). Esta acción de modulación de la excitabilidad neuronal se vuelve especialmente relevante si se consideran las variaciones hormonales durante estos periodos, en los cuales la progesterona y la alopregnanolona experimentan cambios importantes en sus niveles.

Durante la fase luteínica del ciclo menstrual, por ejemplo, el aumento de progesterona y su conversión a alopregnanolona podrían contribuir a la estabilización neuronal, mientras que, en el posparto, la rápida disminución de estas hormonas puede incrementar la susceptibilidad a la actividad epileptiforme. Asimismo, la transición menopáusica, caracterizada por una disminución progresiva de las hormonas esteroides, podría contribuir al aumento de la frecuencia e intensidad de las crisis en mujeres predispuestas (Kennedy y Chen, 2019). Este aspecto resalta la importancia de comprender su papel en la fisiopatología de las crisis de ausencia.

La rata *taiep*, con su dimorfismo sexual en la manifestación de las crisis de ausencia, representa un modelo experimental ideal para estudiar el papel de las hormonas sexuales en la epilepsia. En este estudio, nos enfocamos exclusivamente en hembras adultas, ovariectomizadas y estrogenizadas, para evaluar específicamente cómo la progesterona y su principal metabolito, la alopregnanolona, afectan la frecuencia, duración y latencia de las DEO.

Estudiar esta interacción entre las hormonas sexuales y las crisis de ausencia podría no solo ayudar a entender mejor la fisiopatología de este trastorno, sino también abrir nuevas vías para el desarrollo de terapias más efectivas y personalizadas, dirigidas a pacientes que experimentan cambios hormonales en diferentes etapas de la vida.

6.-HIPÓTESIS.

H0: La administración de alopregnanolona o progesterona disminuirán la frecuencia y duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

H1: La administración de alopregnanolona o progesterona no disminuirán la frecuencia y duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

7.-OBJETIVOS.

Objetivo General:

Evaluar los efectos de la administración sistémica de progesterona y de alopregnanolona en la frecuencia, duración y latencia a la primera descarga espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

Objetivos Particulares:

1. Evaluar el efecto de la administración subcutánea de 10 mg/Kg de alopregnanolona, mediante registros electroencefalográficos de 12 horas en condiciones control y tras en ratas *taiep* hembras ovariectomizadas.
2. Determinar los efectos sobre las descargas espiga-onda en registros electroencefalográficos de 24 horas en condiciones control y tras la administración vía subcutánea de 10 mg/Kg de progesterona en ratas *taiep* hembras ovariectomizadas.
3. Obtener registros electroencefalográficos de 24 horas en condiciones control y tras la administración subcutánea de 50 mg/Kg de progesterona en ratas *taiep* hembras ovariectomizadas.

8.-MÉTODOS Y MATERIAL.

Diseño experimental.

Este protocolo de investigación fue elaborado para analizar los efectos de la administración de progesterona y alopregnanolona en ratas *taiep* hembras adultas (véase figura 19); analizando la frecuencia, duración y latencia a la primera descarga espiga-onda. Para esto, las ratas se dividieron en tres grupos experimentales: el primer grupo recibió una dosis subcutánea de 10 mg/kg de progesterona; el segundo grupo recibió una dosis subcutánea de 50 mg/kg de progesterona; y el tercer grupo fue tratado con una dosis subcutánea de 10 mg/kg de alopregnanolona. Es importante señalar que, en todos los casos, las ratas actuaron como su propio control al realizar registros basales antes de las administraciones hormonales.

Para lograr lo anterior, se establecieron cinco etapas, que incluyeron intervenciones quirúrgicas, habituación al sistema de registro y registros de la actividad eléctrica mediante EEG. Se mantuvo un estado hormonal persistente en las ratas mediante la administración subcutánea de 2μ de 17β -estradiol, para mantenerlas en estro persistente.

1. **Ovariectomía bilateral:** Esta intervención quirúrgica se realizó a los 157 ± 2 días postnatales (DPN) para eliminar la influencia de las hormonas ováricas y asegurar un estado hormonal constante.
2. **Cirugía estereotáxica:** A los 162 ± 2 DPN se implantaron electrodos en: 2 regiones del encéfalo en la corteza cerebral y el hipocampo, para el registro de las descargas espiga-onda.
3. **Habitación al sistema de registro:** Las ratas se se colocaron en el sistema de registro durante 3 días consecutivos, por un periodo de 3 horas diarias, a los 171 ± 2 DPN.
4. **Registro control:** A los 178 ± 2 DPN, se administraron 0.2 mL de aceite de oliva puro extravirgen por vía subcutánea para el grupo control.

5. **Registro EEG con progesterona o alopregnanolona:** A los 180 ± 2 DPN, se administró progesterona o alopregnanolona y se procedió al registro de la actividad EEG.

La administración de estrógenos, progesterona y alopregnanolona se hizo con las dosis en el caso de progesterona de 10 ó 50 mg/Kg, así como para alopregnanolona 10 mg/Kg, siguiendo en todo momento la norma NOM-062-ZOO-1999 y la guía del NIH, Estados Unidos, para el cuidado y uso ético de animales de laboratorio.

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL).

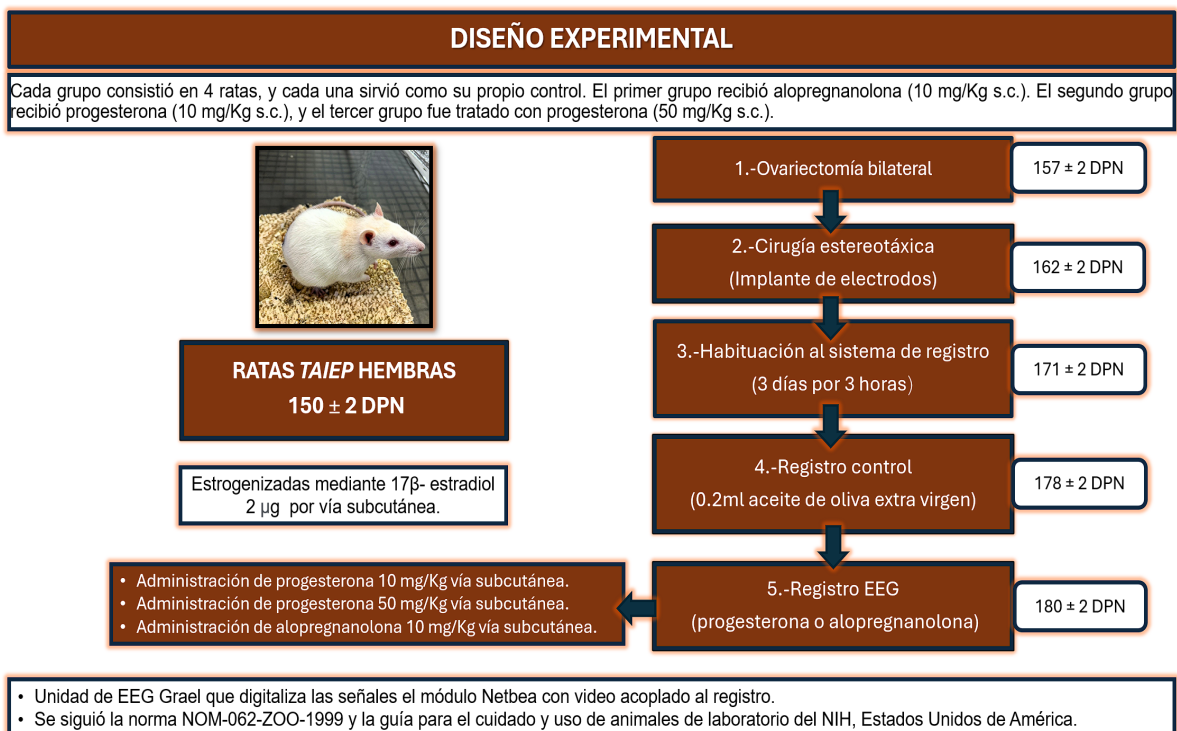


Figura 19. Diseño experimental empleado para analizar el rol de la progesterona y alopregnanolona en las descargas espiga-onda en la rata *taiep* adulta. DPN= días postnatales.

Instrumental quirúrgico.

Para llevar a cabo el registro del EEG, EOG y EMG, y la administración de progesterona y alopregnanolona, se utilizó instrumental quirúrgico de acero inoxidable y suturas de monofilamento (véase Tabla 1). Los trépanos en el cráneo

se hicieron con un taladro Dremel (Modelo 8782 Santul®, estados Unidos de América).

A las ratas se les efectuó una ovariectomía bilateral (OVx) usando una plataforma quirúrgica para ratas (Stoelting, Estados Unidos de América), y todo el procedimiento se realizó con instrumental de acero inoxidable y suturas de monofilamento. Además, se tomó un frotis vaginal con solución salina fisiológica (Pisa™, México) usando una pipeta tipo Pasteur de 1.5 mm de diámetro y una perilla de plástico. El frotis se tiñó utilizando la técnica de hematoxilina-eosina (H&E) para resaltar las estructuras celulares. La visualización del frotis se realizó en portaobjetos con un microscopio óptico binocular (Konus®, México).

Tabla 1: Instrumental quirúrgico necesario para las cirugías empleadas.

Instrumento	Cantidad	Instrumento	Cantidad
• Pinzas Adison.	2	• Pinzas hemostáticas.	4
• Pinzas de disección.	1	• Legra periostotomo.	1
• Tijeras de Mayo.	1	• Mango de bisturí No. 4.	1
• Pinzas Dumont.	1	• Hoja de bisturí No. 20.	1
• Desarmador plano.	1	• Porta agujas.	1
• Sutura de ácido poli glicólico 3-0.	1	• Sutura de Nylon 4-0.	1

Animales de experimentación.

Se utilizaron doce ratas *taiep* hembras adultas de seis meses, divididas en tres grupos experimentales. A las cuatro ratas del primer grupo se les administró alopregnanolona por vía subcutánea a una dosis de 10 mg/Kg; cada una de estas ratas sirvió también como su propio control. El segundo grupo recibió una

administración subcutánea de 10 mg/Kg de progesterona, mientras que el tercer grupo fue tratado con una dosis subcutánea de 50 mg/Kg de progesterona.

Al recibir a los sujetos experimentales en el laboratorio, se colocaron en jaulas colectivas de acrílico transparente de 40 cm de alto, 30 cm de ancho y 45 cm de largo, albergando de tres a cuatro animales por jaula para su aclimatación inicial. La viruta de madera presurizada (Aspen chip, Nepco, Estados Unidos de América) utilizada como sustrato en la caja de vida para asegurar condiciones de higiene requerida. Una vez que los animales fueron sometidas a los procedimientos quirúrgicos, como la ovariectomía o la cirugía estereotáxica, cada rata fue alojada individualmente en una jaula de acrílico transparente de 25 cm de alto, 25 cm de ancho y 35 cm de largo, para reducir el estrés y facilitar su monitoreo, dos veces al día.

Los animales se mantuvieron bajo condiciones estándar de bioterio, con un ciclo luz-oscuridad de 12:12 (luces encendidas a las 07:00), temperatura controlada de 22 ± 2 °C y humedad relativa de 30-45%. Se proporcionó acceso *ad libitum* a alimento balanceado para roedores (Purina Mills 5008, Estados Unidos de América) y agua purificada Ciel® (Coca-Cola Co., México).

Todos los procedimientos experimentales se realizaron conforme a las regulaciones establecidas por la Norma Oficial Mexicana 062 para el cuidado y manejo de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999), y además con las normativas de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (National Institutes of Health, NIH; National Research Council Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011). La supervisión y el cuidado de los animales estuvieron a cargo del Médico Veterinario Ángel David Silva Terraza, la Maestra en Ciencias Biológicas Araceli Ugarte Rojano y el Técnico Josué Lima Morgan.

1.-Ovariectomía.

El procedimiento de ovariectomía se realizó siguiendo una técnica documentada

para asegurar la precisión y el bienestar de las ratas en el periodo postoperatorio (Stout Steele y Bennett, 2011). Para realizar la ovariectomía, las ratas fueron inicialmente colocadas una cámara de inducción de anestesia con isoflurano (Fluriso™, Vet One, Estados Unidos de América) con una concentración de 5% y oxígeno (O₂) a un flujo de 0.5 L/min para inducir la anestesia. Una vez que se alcanzó un estado de anestesia profundo y estable, se administró meloxicam a una dosis de 1 mL/kg vía subcutánea para proporcionar analgesia durante y después de la cirugía. Cada rata fue colocada en decúbito ventral sobre una almohadilla térmica, que mantuvo una temperatura estable de 37° ± 1°C durante toda la cirugía. Se efectuó una antisepsia rigurosa en la región lumbar utilizando yodopovidona al 10% (Isodine®, México).

Con una tijera tipo Mayo recta, se realizó un abordaje unilateral, cortando por planos la piel, el tejido celular subcutáneo y el músculo hasta alcanzar la cavidad peritoneal, véase la figura 20. Los ovarios, ubicados por debajo del último plano del músculo y embebidos en una masa de tejido adiposo, fueron expuestos retirando cuidadosamente el tejido adiposo para permitir una visualización clara. Una vez localizados, los ovarios y la porción distal de los oviductos fueron anudados con seda “000” a la altura del oviducto y se realizó una ligadura firme. Tras la ligadura, los ovarios y la porción distal de los oviductos fueron cortados y extraídos con pinzas quirúrgicas para asegurar su completa extracción.

Este procedimiento fue repetido en el lado opuesto para extirpar el segundo ovario. Una vez completada la extracción de ambos ovarios, se procedió a suturar por planos el músculo con sutura de ácido poliglicólico “000”. Y finalmente, la incisión cutánea fue cerrada con puntos separados utilizando hilo Nylon “0000”. Posterior a la cirugía, cada rata fue mantenida en observación y se le administraron meloxicam (Flaxol MX®, BioZoo, México) como analgésico a una dosis de 1 mL/kg y enrofloxacin (Enroxil®, 5%, 0.015 mg/kg) como antibiótico, ambos por vía subcutánea en la región dorsal del cuello, durante tres días consecutivos.

Todo el procedimiento se realizó en condiciones estériles, y las ratas fueron cuidadosamente monitoreadas para asegurar una recuperación plena.

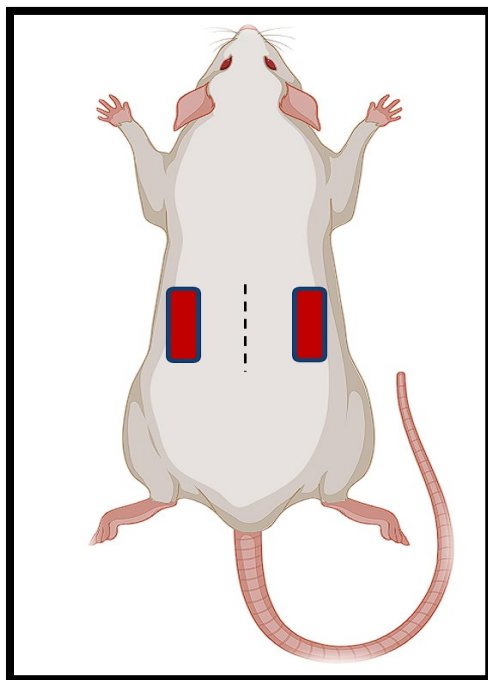


Figura 20. Ovariectomía bilateral en ratas *taiep*. A las ratas taiep hembras adultas, se les practicó una ovariectomía (OVX) bilateral sobre una plataforma quirúrgica para ratas (Stoelting, Estados Unidos de América). Se realizó una incisión inicial en la piel a lo largo de la línea media (representada por la línea negra en la imagen) justo por debajo de la última costilla. Posteriormente, se hicieron incisiones en el músculo en las ubicaciones laterales (indicadas en rojo) para acceder a los ovarios y proceder a su extracción. *Elaboración propia.*

2.-Reemplazo hormonal y obtención de muestras de frotis vaginal.

Después de la ovariectomía, se administró a las ratas una terapia de reemplazo hormonal para inducir y mantener un estado de estro persistente. La administración hormonal consistió en una dosis de 2 μg de 17- β estradiol por vía subcutánea cada 48 horas. Esta dosis se eligió en base a estudios previos que demuestran su efectividad para mantener niveles estables de estrógeno en animales ovariectomizados (Isaksson et. al., 2011). Para cada sesión de registro electroencefalográfico (EEG), se realizó un frotis vaginal antes del registro para confirmar el estado de estro de las ratas. El procedimiento de frotis consistió en usar una pipeta tipo Pasteur con 0.2 mL de solución salina isotónica para lavar la cavidad

vaginal. El material recolectado se extendió sobre un portaobjetos, se dejó secar y se tiñó con hematoxilina-eosina para su observación en un microscopio estereoscópico (Konus®, México). La fase de estro se determinó por la presencia predominante de células epiteliales queratinizadas anucleadas, con escasa o nula cantidad de leucocitos, como se muestra en la figura 21 (Cora et al., 2015).

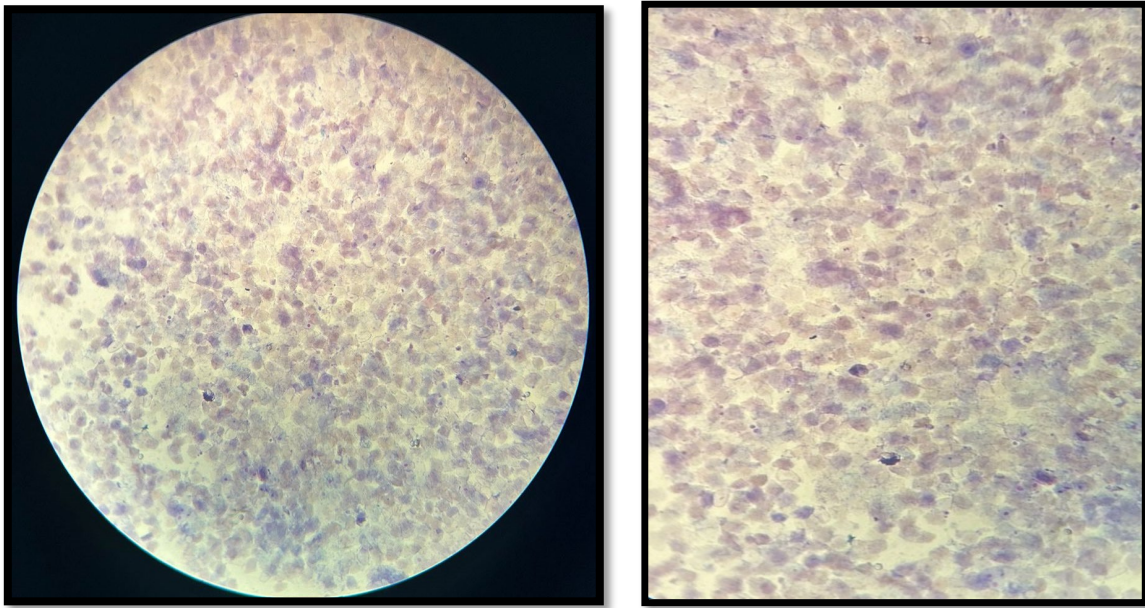


Figura 21. Frotis vaginal de una rata *taiep* hembra en fase de estro. Se observa una predominancia de células epiteliales queratinizadas anucleadas, característica de esta fase, junto con una escasa o nula presencia de leucocitos. La tinción hematoxilina-eosina (H&E) resalta la estructura de las células queratinizadas en el frotis. *Imágenes capturadas durante el presente estudio.*

Este protocolo de reemplazo hormonal se mantuvo durante todo el periodo experimental para asegurar una regulación estable de los niveles de estrógeno, con lo que se anularon las variaciones hormonales que pudieran afectar los registros electrofisiológicos.

3.-Cirugía estereotáxica para implante de electrodos.

Para la colocación precisa de electrodos en la corteza cerebral, se realizó una cirugía estereotáxica utilizando un aparato estereotáxico tipo Kopf (Modelo 900LS, Stoelting, Estados Unidos de América). Las ratas fueron inicialmente colocadas en

una cámara de inducción de anestesia con isoflurano (Fluriso™, Vet One, Estados Unidos de América) con una concentración de 5% y oxígeno (O₂) a un flujo de 0.5 L/min para inducir la anestesia. Una vez que se alcanzó un estado de anestesia profundo y estable, se administró meloxicam a una dosis de 1 mL/kg vía subcutánea para asegurar analgesia durante el procedimiento.

Posteriormente, las ratas fueron trasladadas al aparato estereotáxico y montadas cuidadosamente. Se ajustó entonces la concentración de Isoflurano al 2% para el mantenimiento de la anestesia, con un flujo de oxígeno de 0.5 L/min.

Previamente a la cirugía, se realizó una limpieza antiséptica de la región dorsal de la cabeza con yodopovidona al 10% (Isodine®, México). Una vez fijada al aparato estereotáxico, se llevó a cabo una incisión, en la parte media del cráneo, y se disecaron cuidadosamente los tejidos subcutáneos para exponer los huesos craneales.

Se procedió a eliminar el periostio con una legra para exponer completamente el área quirúrgica. Los puntos de referencia craneales, bregma y lambda, se identificaron y se alinearon en el eje dorsoventral (DV) utilizando las coordenadas de referencia para establecer el cero en los ejes mediolateral (ML) y dorsoventral (DV), siguiendo la guía del atlas estereotáxico Paxinos y Watson, (George Paxinos and Charles Watson, 2013) y la disposición de electrodos propuestos por Eguibar y Cortés (Eguibar et al., 2010b), se realizaron los siguientes pasos:

1. **Colocación de electrodos en el hipocampo:** Se realizó un trépano en el hueso parietal derecho en las coordenadas ML = -2.5 mm, AP = -4 mm, DV = -2.5 mm, para la colocación de un electrodo bipolar en la región CA1 del hipocampo.
2. **Electrodos corticales:** Se realizaron tres trepanos en el cráneo para la colocación de tres electrodos de tornillo de acero inoxidable en las cortezas frontal, parietal y occipital.
3. **Electrodos para EMG y EOG:** Se implantaron dos electrodos de alambre de nicromo en los músculos de la nuca para el electromiograma (EMG) y un

electrodo en la región superior de la órbita izquierda para el registro electrooculográfico (EOG).

Una vez colocados todos los electrodos, la región craneal fue sellada con acrílico dental (Nic Tone®, México) para asegurar la fijación de los electrodos, véase la figura 22.

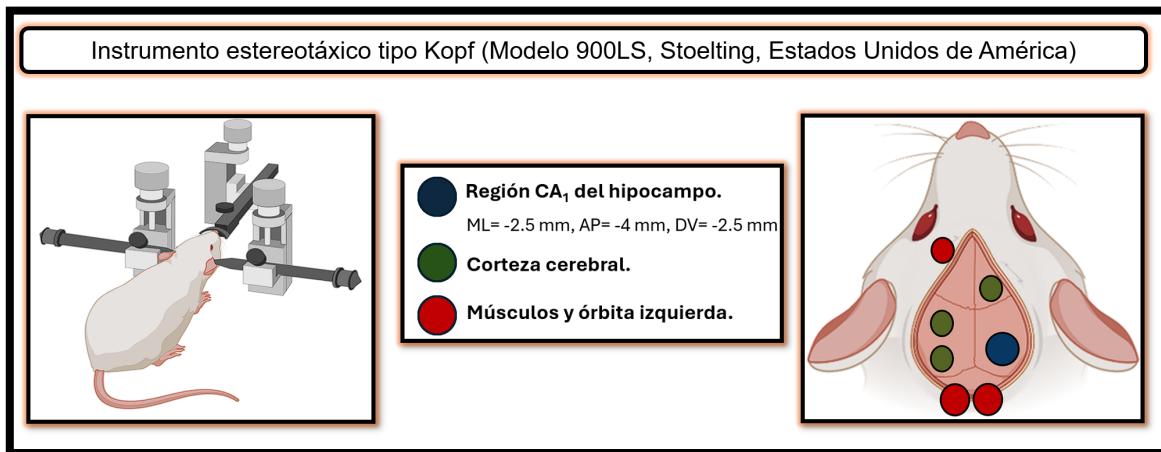


Figura 22. Esquema que muestra la posición de los electrodos de registro en una ratona *taiep* hembra adulta. Los electrodos de la corteza están representados en color purpura, amarillo y azul claro, mientras que el electrodo del hipocampo está en color vino. El electrodo para el registro del electrooculograma (EOG) se muestra en color gris, y los electrodos en los músculos de la nuca para el electromiograma (EMG) se representan en color rosa pastel. *Elaboración propia.*

4.-Habitación pre-registro.

Antes de iniciar los registros electroencefalográficos (EEG), las ratas fueron sometidas a un período de habituación por tres días consecutivos. Durante este período, cada ratona fue colocada en las mismas condiciones de registro que se utilizarían en el experimento para reducir el estrés y garantizar que se habitúen al ambiente experimental. Cada sesión de habituación tuvo una duración de tres horas diarias.

Las ratas fueron alojadas en cajas de acrílico transparente individuales, ubicadas dentro de un entorno en condiciones medio ambientales controladas, que incluía un cuarto sonoamortiguado y eléctricamente aislado mediante una jaula Faraday.

Durante el periodo de habituación, se proporcionó acceso continuo a alimento balanceado para roedores (Purina Mills 5008, Estados Unidos de América) y agua purificada Ciel® (Coca-Cola™, México) *ad libitum*. Esta habituación también permitió monitorear el estado general de las ratas y asegurar las condiciones necesarias para los registros experimentales.

5.-Registro control.

El registro de control consistió en un monitoreo basal de las señales electroencefalográficas (EEG), electromiográficas (EMG) y electrooculográficas (EOG) de las ratas, realizado antes de la administración de progesterona o alopregnanolona. Para el registro de control, se administró a cada rata una inyección subcutánea de 0.2 mL de aceite de oliva ultra virgen (Oro Verde®, Casa Olearia Carapelli, Italia), comenzando el registro a las 08:00 horas.

La duración del registro fue de 12 horas para el grupo de alopregnanolona y de 24 horas para el grupo de progesterona, permitiendo obtener una línea base precisa y prolongada de la actividad electroencefalográfica y del comportamiento de las ratas en condiciones control. Durante el periodo de registro, cada rata permaneció en una caja experimental transparente y se le permitió moverse libremente. Se proporcionó acceso continuo a alimento balanceado y agua, y las ratas fueron monitoreadas en todo momento mediante una cámara de video (Sony®, Japón) integrada al sistema de registro.

El registro de las señales EEG, EMG y EOG fue realizado con el sistema GRAEL LT (Compumedics®, Reino Unido) y analizado con el programa de cómputo Profusion Sleep (Compumedics®, Reino Unido). Las señales capturadas fueron sincronizadas con la actividad de video para correlacionar los estados conductuales y de actividad cerebral de cada rata.

6.-Alopregnanolona.

El registro electroencefalográfico (EEG) se realizó para analizar el efecto de la 5 α ,3 α -pregnenolona (Sigma-Aldrich®, Estados Unidos de América, número de catálogo P5052-10MG) en la frecuencia, duración y latencia a la primera descarga espiga-onda tras la administración subcutánea de 10 mg/Kg en las ratas hembra *taiep* ovariectomizadas y en estro persistente. Este registro tuvo una duración de 12 horas, comenzando a las 08:00 horas, y permitió observar los efectos específicos de la alopregnanolona sobre la actividad cerebral.

7.-Progesterona.

El registro electroencefalográfico (EEG) se realizó para evaluar el efecto de la progesterona en la frecuencia, duración y latencia a la primera descarga espiga-onda en las ratas tras la administración subcutánea de 10 mg/Kg o 50 mg/Kg de progesterona. Este registro tuvo una duración de 24 horas, comenzando a las 08:00 horas, permitiendo observar tanto los efectos inmediatos como prolongados de la progesterona sobre el electroencefalograma.

A cada rata se le administró una dosis experimental de progesterona (Sigma-Aldrich®, Estados Unidos de América, número de catálogo P0130-100MG), vía subcutánea en la región dorsal del cuello.

8.-Identificación de las descargas espiga-onda.

Los criterios para la identificación de las crisis de ausencia fueron los siguientes:

1. Presencia de descargas espiga-onda en todos los canales corticales.
2. Patrón caracterizado por un ascenso seguido de un descenso en la amplitud de la señal, con retorno a la actividad cortical basal.
3. Duración de las descargas espiga-onda mayor a 1 segundo.
4. Frecuencia de las descargas espiga-onda en el rango de 4 a 8 Hz.

5. Inicio y término abrupto de las descargas espiga-onda.
6. Observación de inmovilidad en las ratas durante el periodo de la descarga espiga-onda.

Posterior a la identificación de las descargas espiga-onda (DEO), se analizaron los siguientes parámetros (véase figura 23):

- **Frecuencia de las DEO:** tomando promedio cada dos horas a lo largo del periodo de registro.
- **Duración total y media de las DEO:** Evaluación de la duración de los episodios de descarga espiga-onda tomando promedio cada dos horas.
- **Latencia a la primera DEO:** tiempo transcurrido desde el inicio del registro (08:00 h) hasta la primera DEO.
- **Número total de DEO:** registrado durante el periodo de 24 horas para progesterona (10 mg/Kg ó 50 mg/Kg) y de 12 horas con alopregnanolona (10 mg/Kg).

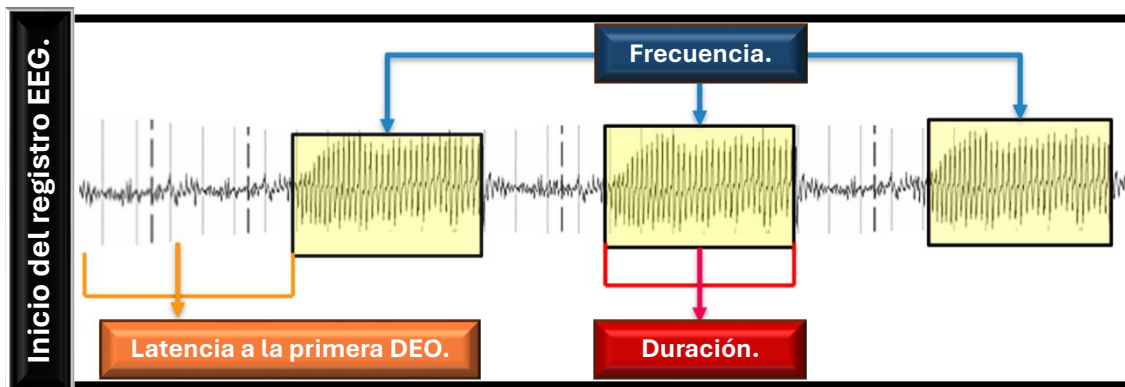


Figura 23. Representación gráfica de los parámetros clave de las descargas espiga-onda (DEO) en el registro EEG. La **latencia a la primera DEO** (en naranja) indica el tiempo transcurrido desde el inicio del registro EEG hasta la aparición de la primera crisis de ausencia. La **frecuencia** (en azul) se define como el número total de episodios de crisis de ausencia (DEO) observados durante todo el registro. La **duración** (en rojo) representa el tiempo que dura cada episodio individual de DEO desde su inicio hasta su término. Esta imagen ilustra visualmente estos parámetros para facilitar la comprensión de los patrones de las crisis de ausencia. *Elaboración propia.*

Esta metodología permitió una caracterización detallada de los efectos de la progesterona y la alopregnanolona en las crisis de ausencia, proporcionando datos sobre la modulación de las DEO en términos de frecuencia, duración y latencia.

9.-RESULTADOS

Efecto de la alopregnanolona en la frecuencia, duración y latencia de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

La administración de 10 mg/Kg de alopregnanolona en ratas *taiep* hembras adultas (n=4) incrementó la frecuencia de las descargas espiga-onda, en comparación al grupo control. Sin embargo, este cambio no fue estadísticamente significativo ($P > 0.05$). De las 08:00-10:00 h, la media de la frecuencia de las DEO fue de 104 ± 45.56 E.E.M. en el grupo de alopregnanolona, en comparación con 66.50 ± 14.31 E.E.M. en el grupo control. Durante el intervalo de 10:00-12:00 h, la frecuencia media en el grupo de alopregnanolona fue de 80.50 ± 25.90 E.E.M., mientras que en el grupo control fue de 47.25 ± 6.87 E.E.M., (véase Figura 24).

El análisis ANOVA de medidas repetidas mostró diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de las DEO entre los grupos ($F_{(3,20)} = 49.213$, $P < 0.001$). La prueba *post hoc* de Dunnett reveló que el grupo de alopregnanolona no presentó diferencias significativas en comparación con el control ($q' = 3.094$, $P = 0.322$), indicando que, aunque hubo un aumento en la frecuencia de las DEO en ciertos intervalos, este no alcanzó significancia estadística.

En el intervalo de 16:00-18:00 h, la frecuencia media en el grupo de alopregnanolona fue de 82.25 ± 23.91 E.E.M., y en el grupo control fue de 81.00 ± 19.20 E.E.M., mostrando una estabilización de los valores y una similitud en ambos grupos.

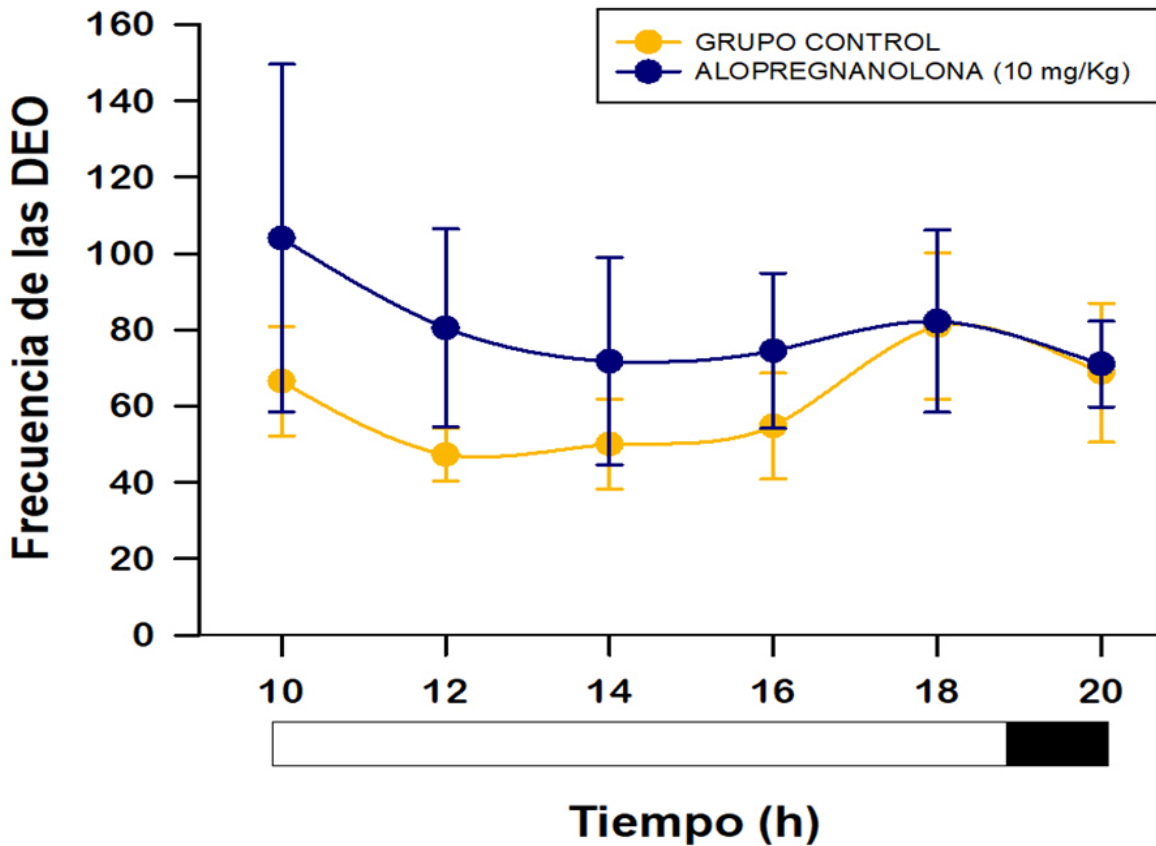


Figura 24. Efecto de la administración de alopregnanolona sobre la frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras, ovariectomizadas y estrogenizadas. La administración de alopregnanolona a una dosis de 10 mg/Kg no modificó significativamente la frecuencia de las DEO, de acuerdo con el análisis ANOVA de medidas repetidas ($F_{(3,20)} = 49.213$, $P < 0.001$) y la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett ($q' = 3.094$, $P = 0.322$). La barra blanca representa la fase de luz y la barra negra la fase oscura. Los resultados son la media \pm error estándar de la media (EEM) de 4 ratas hembra *taiep* por grupo.

Tabla 2: Descargas espiga-onda en el grupo control y tras la administración de alopregnanolona.

Intervalo de tiempo (h)	Control Media	Control E.E.M.	Alopregnanolona Media	Alopregnanolona E.E.M.
08:00-10:00	66.50	14.31	104	45.56
10:00-12:00	47.25	6.87	80.50	25.90
12:00-14:00	50.00	11.81	71.75	27.20
14:00-16:00	54.75	13.86	74.50	20.37
16:00-18:00	81.00	19.20	82.25	23.91
18:00-20:00	68.75	18.18	71.00	11.28
E.E.M. Error estándar de la media.				

Al analizar la frecuencia total media de las descargas espiga-onda (DEO), se obtuvo un incremento significativo tras la administración de alopregnanolona en comparación con el grupo control, como se puede observar en la figura 25. La frecuencia total media de las DEO en el grupo control fue de 61.375 ± 5.287 (E.E.M.), y de 80.667 ± 12.312 (E.E.M.), lo que representa un aumento del 31.55% en el grupo experimental. El análisis de varianza (ANOVA) reveló diferencias significativas entre los grupos ($F_{(1, 10)} = 6.993$, $P = 0.025$).

La prueba *post hoc* de Dunnett confirmó esta diferencia significativa entre el grupo control y el grupo tratado con alopregnanolona ($q' = 2.644$, $P = 0.025$), evidenciando que la administración de alopregnanolona aumentó significativamente la frecuencia de las DEO en comparación con el control.

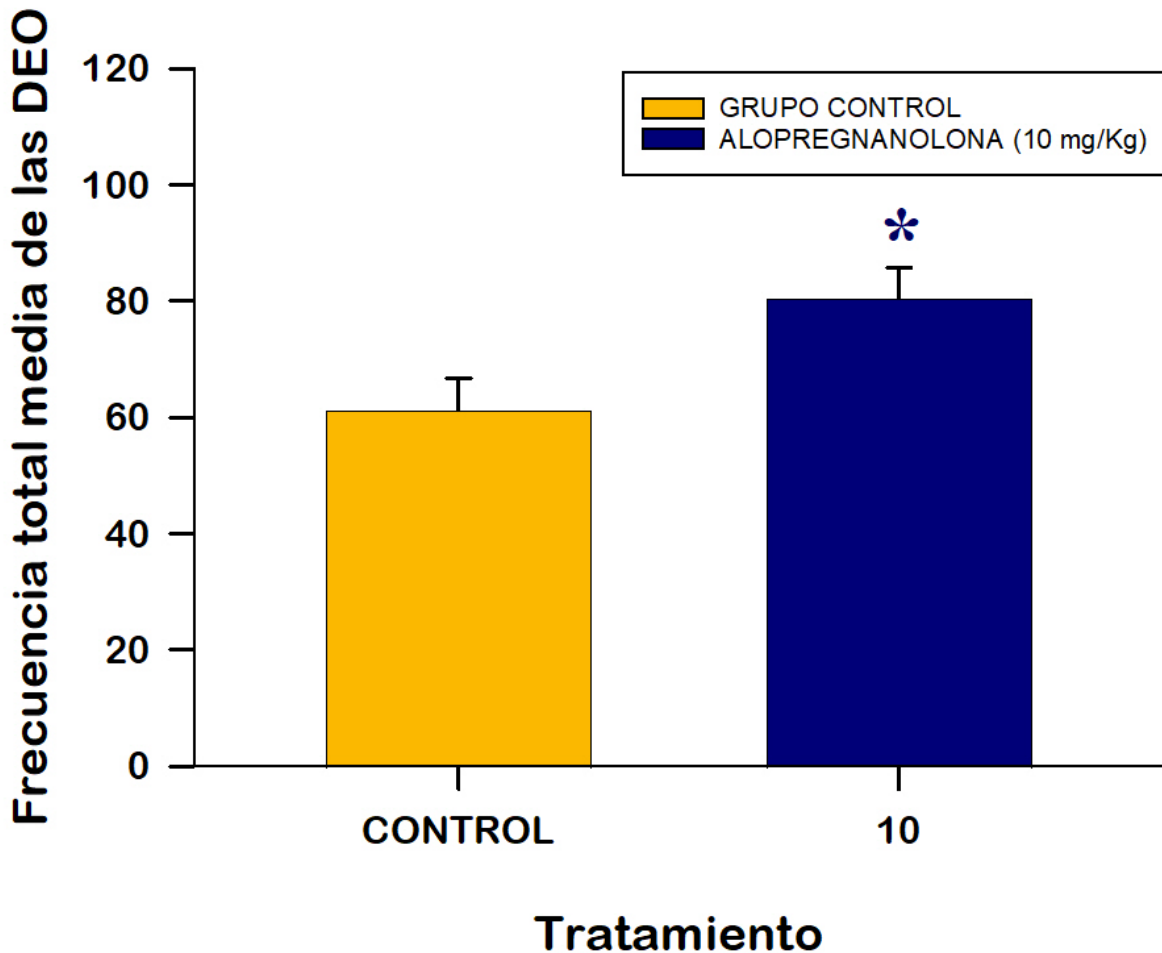


Figura 25. Efecto de la administración de alopregnanolona en la frecuencia total media de las descargas espiga-onda (DEO) en ratas *taiep*. Los valores representan la media \pm error estándar de la media (E.E.M.) de 4 ratas por grupo empleado. El asterisco indica una diferencia significativa con el grupo control ($P < 0.05$, ANOVA de medidas repetidas con corrección de Greenhouse-Geisser). La prueba de Dunnett confirmó la diferencia significativa observada entre los grupos, con un valor de $q' = 2.644$ ($P = 0.025$).

Se analizó la duración media de las descargas espiga-onda (DEO) durante 12 horas en ratas *taiep* hembra. Los resultados muestran que tras la administración de alopregnanolona se produjo un incremento significativo en la duración media de las DEO en comparación con el grupo control (ANOVA de medidas repetidas, $F_{(4.52)} = 7.76$, $P < 0.001$).

Particularmente en los intervalos de 10:00 a 12:00 h, 12:00 a 14:00 h, 14:00 a 16:00 h, 16:00 a 18:00 h y 18:00 a 20:00 h. La media de la duración de las DEO en estos intervalos varió entre 3.78 ± 0.14 y 3.66 ± 0.11 segundos, mientras que en el grupo control se mantuvo entre 2.69 ± 0.08 y 2.83 ± 0.08 segundos. La prueba *post hoc* de Dunnett confirmó que estas diferencias fueron significativas ($q' = 2.939$, $P = 0.009$).

La duración media de las DEO en el intervalo de 8:00 a 10:00 h también fue superior en el grupo tratado con alopregnanolona (2.98 ± 0.15 segundos) en comparación con el grupo control (2.58 ± 0.07 segundos), pero esta diferencia no alcanzó significancia estadística (Dunnett, $q' = 1.470$, $P = 0.093$).

Fases de luz y oscuridad: Durante la fase de luz (barra blanca en la parte inferior de la figura 26), la duración media de las DEO en el grupo tratado alcanzó valores alrededor de 4 segundos, mientras que en el grupo control se mantuvo entre 2.5 y 2.8 segundos.

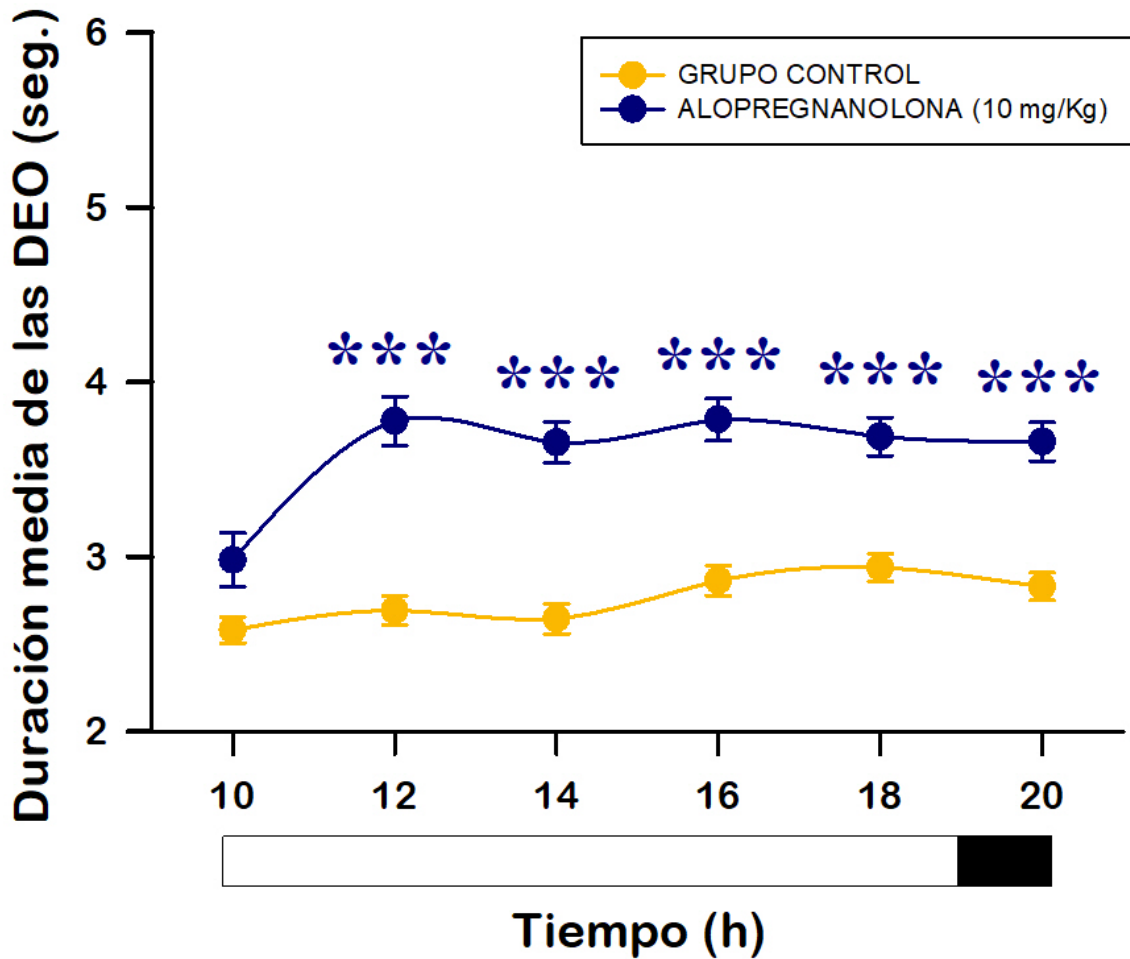


Figura 26. Efecto de la administración de alopregnanolona sobre la duración media de las descargas espiga-onda (DEO) en ratas *taiep* hembra. La administración de 10 mg/Kg de alopregnanolona aumentó significativamente la duración de las DEO en comparación con el grupo control, alcanzando un máximo de 3.78 ± 0.14 segundos entre las 10:00-12:00 horas (ANOVA de medidas repetidas, $F_{(4,52)} = 7.76$, $P < 0.001$; prueba *post hoc* de Dunnett, $P < 0.001$). Este efecto se mantuvo significativo en los intervalos de tiempo subsiguientes, desde las 12:00 hasta las 20:00 horas (Dunnett, $P < 0.001$). Durante el intervalo de 08:00 a 10:00, no se observaron diferencias significativas (Dunnett, $q' = 1.470$, $P = 0.093$). La barra blanca muestra la fase de luz y la barra oscura la fase oscura del ritmo circadiano. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de la media (E.E.M.) de cuatro ratas por grupo.

En la tabla 3 se presentan las medias y el error estándar de la media para cada intervalo de tiempo evaluado.

Tabla 3. Duración media de las descargas espiga-onda en el grupo control y el tratado con alopregnanolona.

Intervalo de tiempo	Control Media	Control E.E.M.	Alopregnanolona Media	Alopregnanolona E.E.M.
08:00-10:00	2.58	0.07	2.98	0.15
10:00-12:00	2.69	0.08	3.78	0.14
12:00-14:00	2.65	0.09	3.65	0.12
14:00-16:00	2.86	0.09	3.79	0.12
16:00-18:00	2.94	0.08	3.69	0.11
18:00-20:00	2.83	0.08	3.66	0.11
E.E.M. =error estándar de la media				

En la figura 27 se muestra el efecto de la alopregnanolona en la duración total media de las descargas espiga-onda (DEO). En el grupo control, la duración media de las DEO fue de 2.74 segundos. Sin embargo, con la administración de alopregnanolona, se obtuvo un aumento significativo en la duración de las DEO, alcanzando un incremento de un 30.17% en comparación con el grupo control ($P < 0.001$).

Además, se realizó un ANOVA de medidas repetidas para analizar el efecto de la alopregnanolona en la duración media de las DEO, donde la duración media observada en el grupo tratado fue de 3.59 segundos. Dado que la prueba de esfericidad de Mauchly mostró una desviación significativa de la esfericidad (W de Mauchly = 0.786, $\chi^2 (14) = 85.909$, $P < 0.001$), se aplicó la corrección de Huynh-Feldt ($\epsilon = 0.921$). Con esta corrección, el análisis nos indica el efecto significativo de la alopregnanolona produjo un incremento en la duración de las DEO, $F_{(4,6)} = 7.76$, $P < 0.05$.

La prueba *post hoc* de Dunnett reveló que la comparación entre el grupo de alopregnanolona y el grupo control fue significativa ($q' = 2.882$, $P = 0.004$), confirmando el efecto de la alopregnanolona en el aumento de la duración media de las DEO.

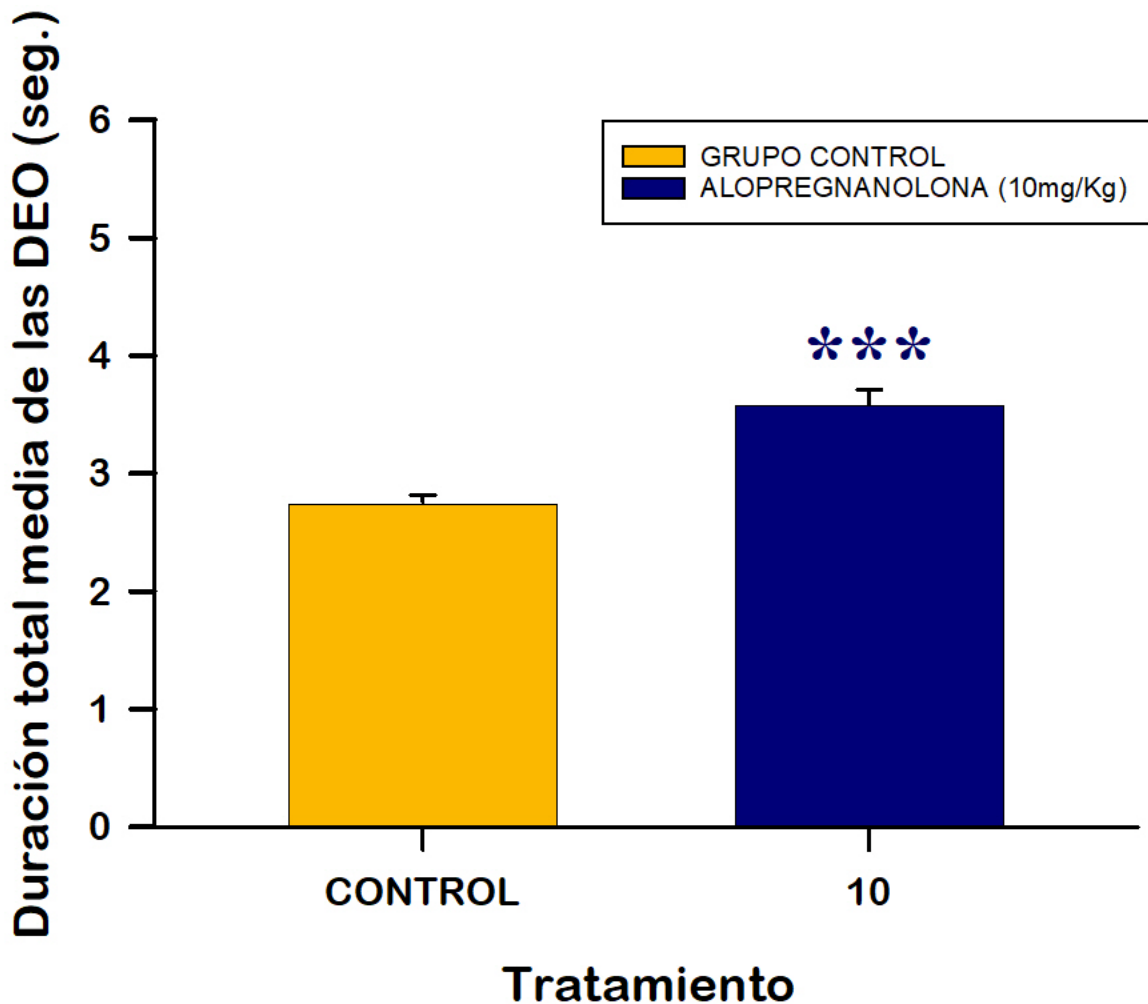


Figura 27. Efecto de la administración de alopregnanolona sobre la duración total media de las descargas espiga-onda (DEO). La administración de alopregnanolona a una dosis de 10 mg/Kg incrementó significativamente la duración total media de las DEO en un 30.17% en comparación con el grupo control (3.6 ± 0.5 seg vs. 2.8 ± 0.4 seg; ANOVA de medidas repetidas con corrección de Huynh-Feldt, $F_{(4,6)} = 7.76$, $P < 0.001$).

El efecto de la alopregnanolona en la latencia al primer evento de descargas espiga-onda (DEO), se muestra en la figura 28. Se analizó mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk siguiendo una distribución normal ($P = 0.392$). Además, la prueba de Brown-Forsythe mostró que las varianzas entre los grupos se consideraban homogéneas ($P = 0.592$). Sin embargo, el análisis de ANOVA no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($F_{(1,6)} = 0.654$,

P = 0.450), indicando que la administración de alopregnanolona no afectó la latencia al primer evento de DEO en comparación con el grupo control.

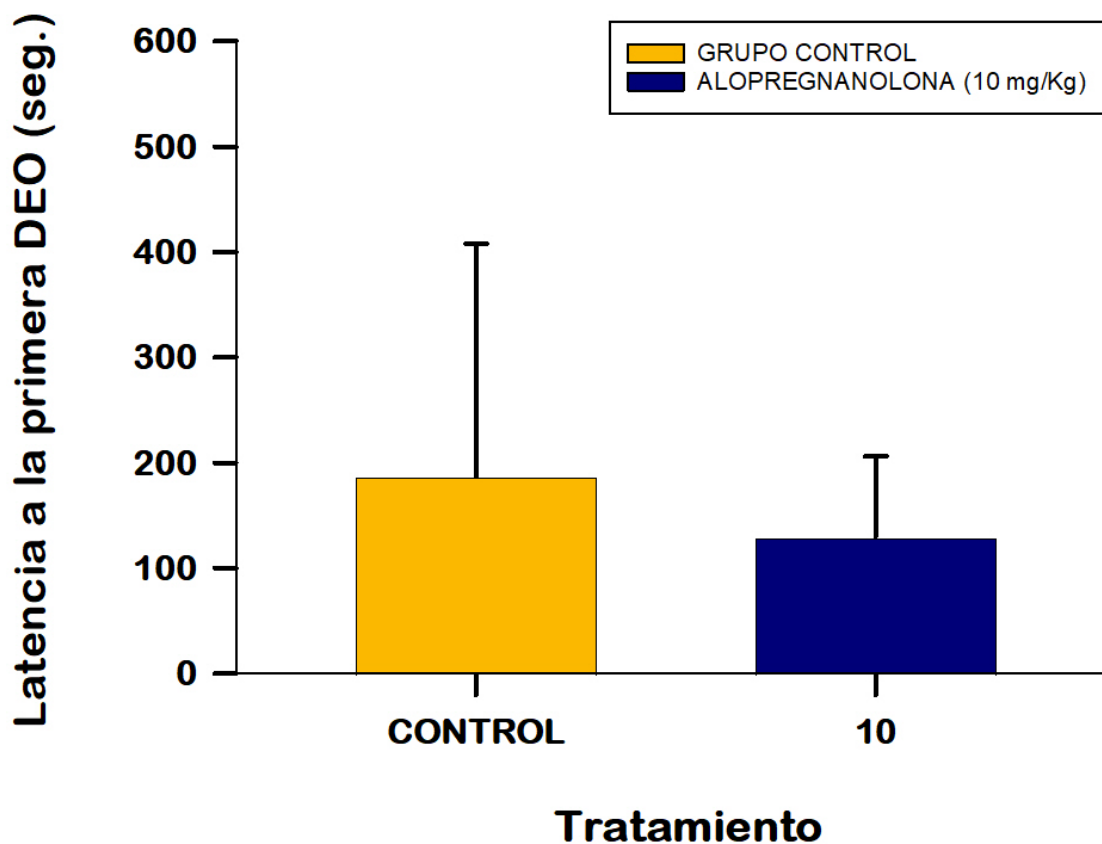


Figura 28. Efecto de la administración de alopregnanolona sobre la latencia al primer episodio de descargas espiga-onda (DEO) en ratas *taiep* hembras. La administración de 10 mg/Kg de alopregnanolona no produjo cambios significativos en la latencia al primer evento de DEO en comparación con el grupo control (ANOVA, $F_{(1,6)} = 0.654$, $P = 0.450$). Los valores representan la media \pm E.E.M. de cuatro ratas hembra por grupo.

Efecto de la progesterona en la frecuencia, duración y latencia de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas.

La frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas tratadas con dos dosis de progesterona de 10 mg/Kg y 50 mg/Kg, comparadas con sus respectivos controles, a lo largo de un ciclo circadiano de 24 horas, se observan en la figura 29.

La dosis de 50 mg/Kg de progesterona indujo un aumento significativo en la frecuencia de las DEO, alcanzando un máximo de 162.5 eventos en el intervalo de 07:00-09:00. Los resultados de la prueba de Dunnett ($q' = 6.308$, $P < 0.001$) muestran diferencias estadísticamente significativas entre el control y la dosis de 50 mg/Kg.

Por su parte con la dosis de 10 mg/Kg de progesterona muestra una tendencia a reducir la frecuencia de las DEO en comparación con el control, con valores menores a lo largo del ciclo, como en los intervalos de 07:00-09:00 donde se obtuvo una media de 49.5 ± 16.775 E.E.M. DEO, y en el intervalo de 17:00-19:00, con una media de 47.75 ± 12.311 E.E.M. (Dunnett $q' = 2.10$, $P=0.06$).

Tabla 4: Frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas tratadas con diferentes dosis de progesterona.

Los resultados son la media y \pm el error estándar de la media (E.E.M.) en los diferentes intervalos. Se obtuvo un incremento significativo en la frecuencia de las DEO en el grupo tratado con 50 mg/Kg de progesterona, durante la fase oscura de 19:00 a 07:00 h, alcanzando sus valores más altos, así como en el intervalo de 07:00-09:00 h con una media de 162.5 ± 12.3 E.E.M. En contraste, el grupo de 10 mg/Kg de progesterona mostró una disminución significativa en la frecuencia de las DEO en comparación con el control, destacándose en la fase de luz, en los intervalos de 05:00-07:00 h con una media de 25 ± 8.1 E.E.M.

La siguiente gráfica proporciona una visualización clara de cómo las distintas dosis de progesterona afectan la frecuencia de las DEO a lo largo del ciclo circadiano.

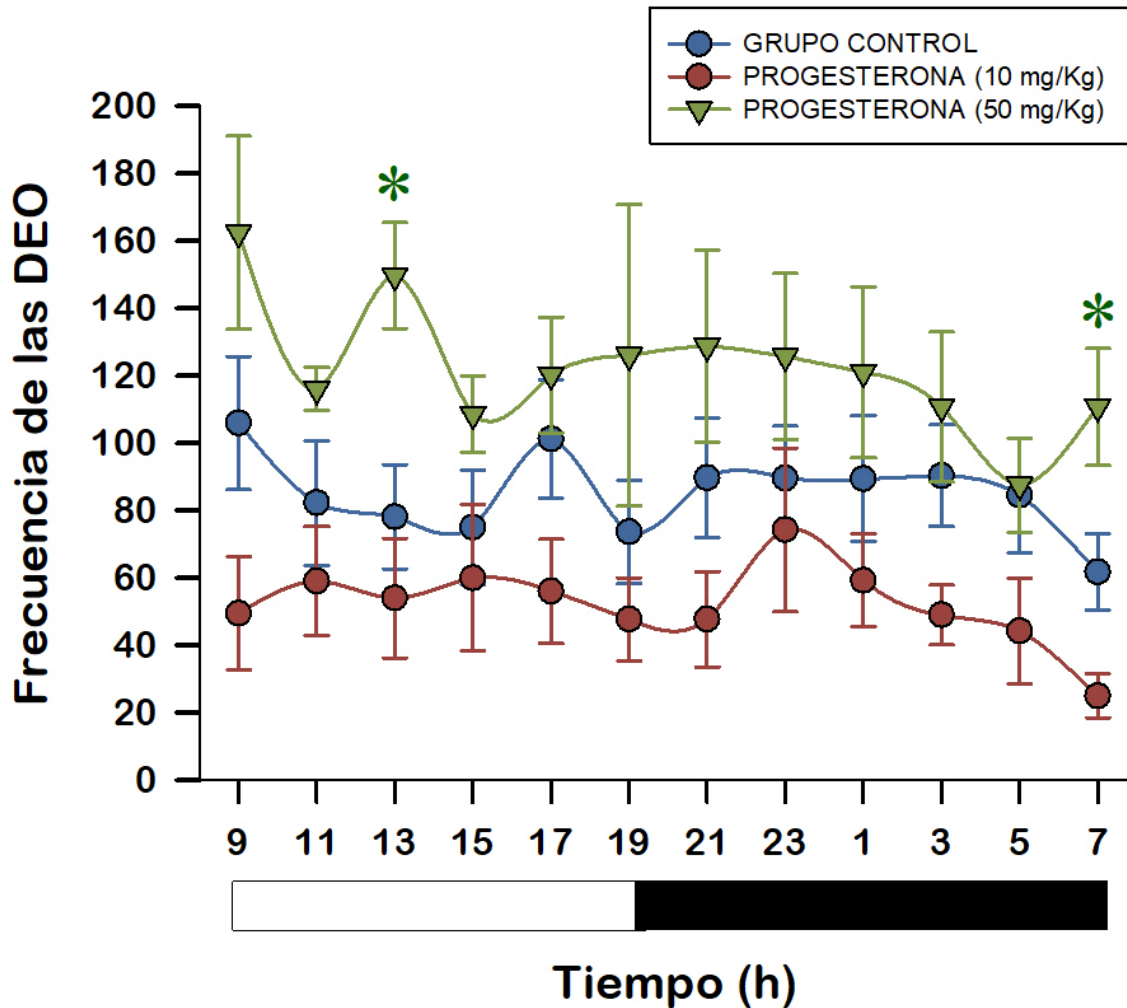


Figura 29. Efecto de la administración de progesterona sobre la frecuencia de descargas espiga-onda en la rata *taiep* a lo largo del ciclo circadiano. La progesterona a la dosis baja de 10 mg/Kg no produjo cambios significativos en la frecuencia de las DEO (prueba de Dunnett, $q'=2.10$, $P=0.6$), mientras que la dosis alta de 50 mg/Kg incrementa significativamente la frecuencia de las DEO (prueba de Dunnett, $q'=6.308$, $P < 0.05$). El análisis global de las 24 horas mediante ANOVA de dos vías mostró un efecto significativo de las dosis ($F_{(2, 22)} = 94.131$, $P < 0.001$), seguido de la prueba de Dunnett que mostró diferencias significativas en comparación con el grupo control ($P < 0.001$). La barra inferior representa el ciclo de luz (blanco) y oscuridad (negro).

Tabla 4: Frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas tratadas con diferentes dosis de progesterona.

Intervalo de tiempo	Control		Progesterona (10 mg/Kg)		Progesterona (50 mg/Kg)	
	Media	E.E.M.	Media	E.E.M.	Media	E.E.M.
07:00-9:00	106	19.7637	49.5	16.7754	162.5	28.6079
9:00-11:00	82.25	18.4785	59	16.1451	116	6.4161
11:00-13:00	78.125	15.5373	54	17.7247	149.7	15.7394
13:00-15:00	75	17.0702	60	21.67794	108.5	11.3247
15:00-17:00	101.25	17.5669	56	15.4326	120.25	17.1239
17:00-19:00	73.625	15.3133	47.75	12.311	126	44.7642
19:00-21:00	89.75	17.7942	47.75	14.1325	128.75	28.5463
21:00-23:00	89.625	15.4872	74.25	24.2774	125.75	24.6521
23:00-01:00	89.375	18.6843	59.25	13.8285	121	25.4263
01:00-03:00	90.375	15.0664	49	8.9069	110.75	22.2537
03:00-05:00	84.5	16.9979	44.25	15.6278	87.5	13.9612
05:00-07:00	61.75	11.2959	25	6.5192	110.75	17.3847

E.E.M. = error estándar de la media.

La frecuencia de las DEO, que se muestran en la figura 30, en el grupo control fue de 86.062 ± 3.505 E.E.M., mientras que en el grupo tratado con 10 mg/Kg de progesterona se observó una reducción a 52.146 ± 3.394 E.E.M., lo que representa una disminución del 39.41% en comparación con el control (Dunnett $q'=8.042$, $P < 0.001$). Por otro lado, la administración de 50 mg/Kg de progesterona resultó en un aumento de la frecuencia a 122.288 ± 5.606 E.E.M., lo que corresponde a un incremento del 42.11% respecto al control (Dunnett $q'=9.173$, $P < 0.001$). El análisis ANOVA mostró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($F_{(2, 33)} = 66.886$, $P < 0.001$). Los análisis *post hoc* con la prueba de Dunnett confirmaron que tanto la dosis de 10 mg/Kg como la de 50 mg/Kg de progesterona presentaron diferencias significativas en comparación con el grupo control ($P < 0.001$).

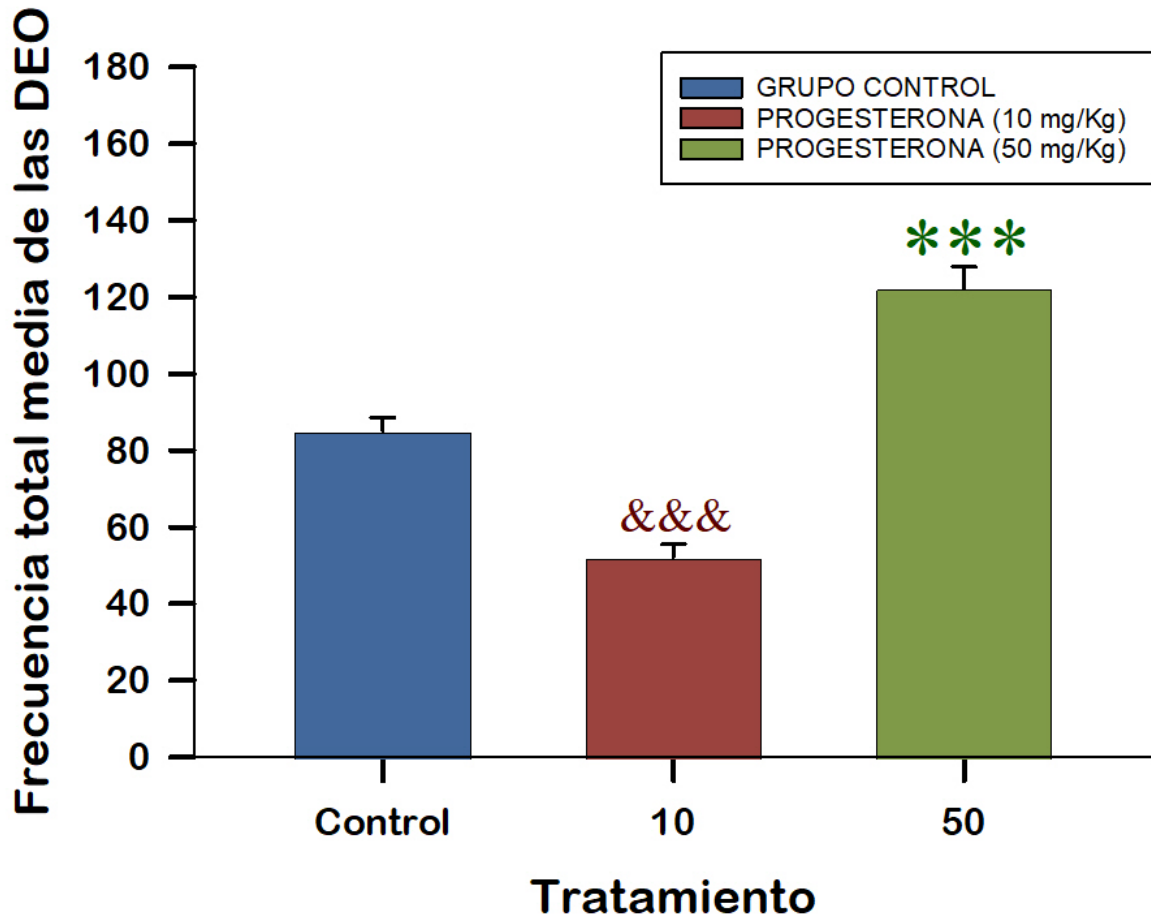


Figura 30: Efecto de la progesterona en la frecuencia media de las descargas espiga-onda en ratas tratadas con diferentes dosis de progesterona. Se demuestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$) entre el grupo control y cada una de las dosis de progesterona, determinadas mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett. Para la dosis de 10 mg/Kg se obtuvo ($q' = 8.042$, $P < 0.001$), mientras que para la dosis de 50 mg/Kg se obtuvo ($q' = 9.173$, $P < 0.001$). El análisis ANOVA muestra un efecto significativo del tratamiento, con $F(2, 33) = 66.886$, $P < 0.001$.

En el grupo tratado con progesterona 50 mg/kg, la duración de las DEO aumenta significativamente en comparación con el control, en las horas 15, 17, 19, 21, 23, 1 y 3 (véase figura 31). Este incremento en la duración alcanza una media de 7.5 ± 0.2 segundos al final de la fase oscura, con una diferencia de 2.5 segundos respecto al grupo control, la prueba post-hoc de Dunnett ($q' = 4.974$, $P < 0.001$).

En contraste, la administración de la dosis baja de progesterona 10 mg/kg produjo una disminución significativa en la duración de las DEO en comparación con el

control, en las horas 13, 15, 17 y 19. La reducción media alcanza 1.8 segundos menos que control. Esta reducción es significativa (Dunnett, $q'=4.174$ $P < 0.001$). El análisis ANOVA refuerza estos resultados, mostrando un efecto significativo del tratamiento en la duración de las DEO ($F_{(2, 33)} = 66.886$, $P < 0.001$). La prueba de comparaciones múltiples (Dunnett $P < 0.001$) confirma tanto el aumento con 50 mg/Kg como la disminución con 10 mg/Kg.

La tabla 5 muestra la media y el error estándar de la media (E.E.M.) para cada grupo en cada intervalo de tiempo. Se obtuvo un incremento en la duración media de las DEO en el grupo tratado con 50 mg/kg de progesterona, especialmente durante la fase oscura en el intervalo de 19:00 a 07:00 h, con una media más alta de 6.6765 ± 0.1642 E.E.M. segundos en el intervalo de 07:00-09:00 h. Por el contrario, el grupo de 10 mg/kg muestra una disminución en la duración media de las DEO en comparación con el control, con valores como 3.7215 ± 0.1324 E.E.M. segundos en el intervalo de 21:00-23:00 h.

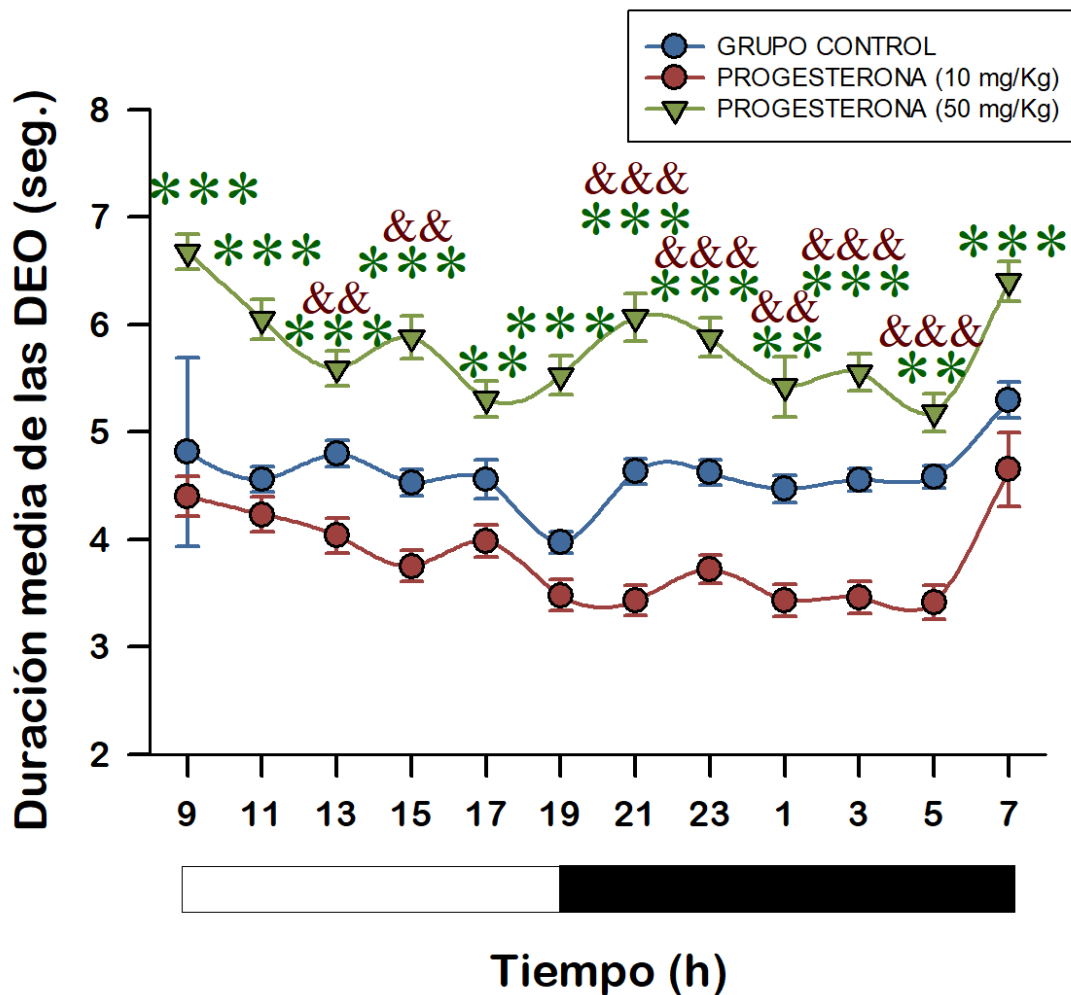


Figura 31: Duración media de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras tratadas con progesterona. Los resultados representan el promedio \pm error estándar de la media (E.E.M.) de cuatro ratas por grupo. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la duración media de las DEO en comparación con el grupo control, determinadas mediante las pruebas de Holm-Sidak y Dunnett ($P < 0.001$). El análisis ANOVA muestra un efecto significativo del tratamiento en la duración de las DEO ($F_{(2, 33)} = 66.886$, $P < 0.001$). Las barras representan los intervalos de luz (blanco) y oscuridad (negro) durante un periodo de 24 horas.

Los niveles de significancia se indicaron con asteriscos: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ y *** $P < 0.001$. Los asteriscos en la gráfica marcan los intervalos de tiempo en los que se observaron diferencias significativas en el grupo tratado con 50 mg/Kg de progesterona, mientras que el símbolo & marca las diferencias significativas en el grupo de 10 mg/Kg.

Tabla 5. Duración media de las descargas espiga-onda en ratas tratadas con diferentes dosis de progesterona comparadas con el grupo control, a lo largo de un ciclo circadiano.

Intervalo de tiempo	Control		Progesterona (10 mg/Kg)		Progesterona (50 mg/Kg)	
	Media	E.E.M.	Media	E.E.M	Media	E.E.M.
07:00-9:00	4.8137	0.8787	4.4	0.1881	6.6765	0.1642
9:00-11:00	4.5575	0.1163	4.2301	0.1622	6.0481	0.1843
11:00-13:00	4.7962	0.1219	4.0361	0.1654	5.5925	0.1599
13:00-15:00	4.5267	0.1237	3.7512	0.144	5.8829	0.1995
15:00-17:00	4.5587	0.1821	3.9844	0.1509	5.3056	0.1669
17:00-19:00	3.9718	0.0976	3.4785	0.1439	5.5288	0.1813
19:00-21:00	4.6316	0.1216	3.4304	0.1414	6.0656	0.2207
21:00-23:00	4.6218	0.1199	3.7215	0.1324	5.8791	0.1791
23:00-01:00	4.4676	0.1286	3.4321	0.1494	5.4211	0.2802
01:00-03:00	4.5542	0.1045	3.4577	0.1503	5.553	0.1706
03:00-05:00	4.5812	0.1065	3.4107	0.159	5.1777	0.1763
05:00-07:00	5.2988	0.1693	4.649	0.3442	6.4011	0.1822

E.E.M. = error estándar de la media.

La duración total media de las descargas espiga-onda en ratas tratadas con progesterona a las dosis de 10 mg/Kg y 50 mg/Kg, en comparación con el grupo control, se puede apreciar en la figura 32. Disminuyó significativamente la dosis de progesterona de 10 mg/kg, con una reducción de 0.783 segundos respecto al control, (Dunnett $q' = 4.824$, $P < 0.001$). La media fue de 3.832 segundos.

Por otro lado con a dosis de 50 mg/Kg de progesterona se obtuvo un incremento en la duración total de las DEO en 1.179 segundos respecto al control (Dunnett $q' = 7.265$, $P < 0.001$). Siendo la media de 5.794 ± 0.204 segundos.

El análisis ANOVA confirma la existencia de diferencias significativas entre los grupos, con un valor de $F_{(2, 33)} = 74.066$, $P < 0.001$. La potencia del análisis fue de 1.000, lo que indica una alta capacidad para detectar estas diferencias significativas. Además, la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($P = 0.228$) y la de varianzas iguales de Brown-Forsythe ($P = 0.138$).

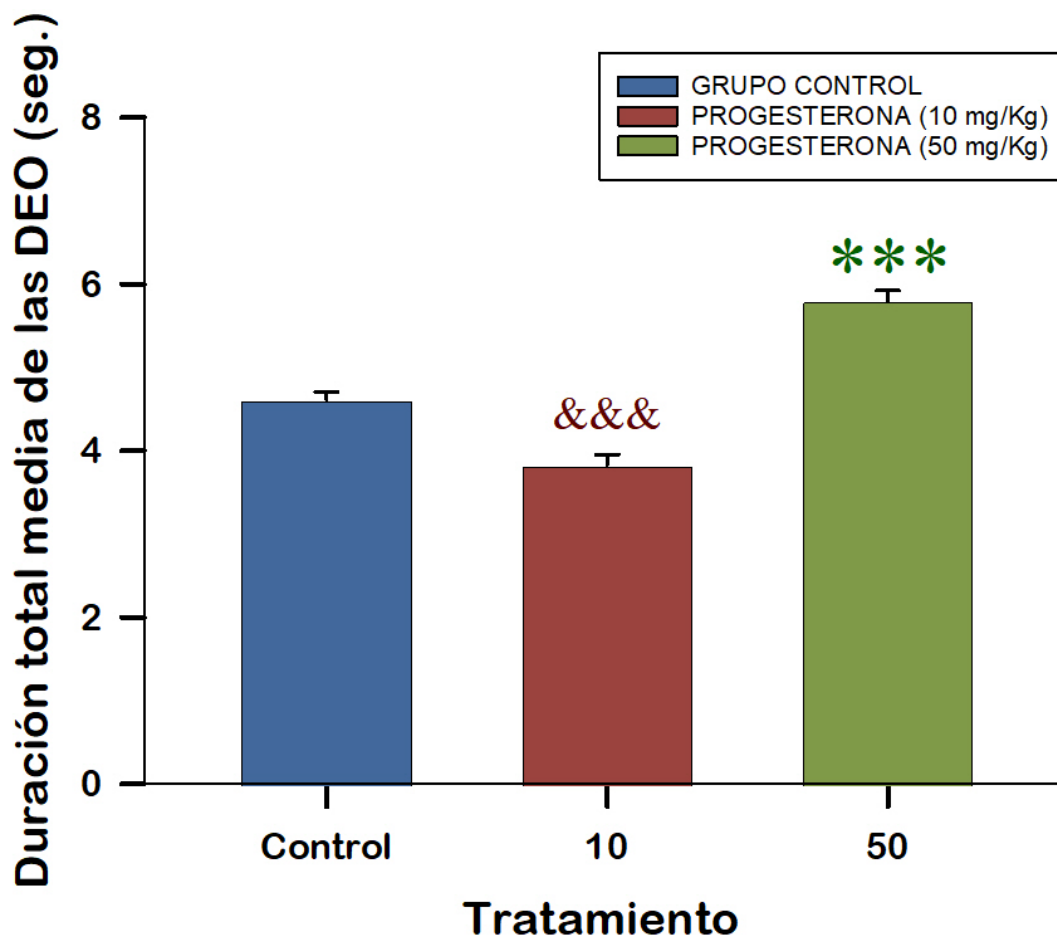


Figura 32. Duración total media de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras tratadas con progesterona a diferentes dosis. La progesterona a dosis bajas reduce significativamente la duración con 10 mg/kg (Dunnett $q'=4.824$, $P < 0.001$) y un incremento con 50 mg/kg (Dunnett $q'=7.265$, $P < 0.001$). El análisis ANOVA también reveló diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 33)} = 74.066$, $P < 0.001$), con una alta potencia de la prueba (1.000). La barra inferior indica las fases de luz (blanco) y oscuridad (negro) durante el ciclo de 24 horas.

La latencia media a la primera descarga espiga-onda en ratas tratadas con diferentes dosis de progesterona (10 mg/Kg y 50 mg/Kg) en comparación con el grupo control (véase figura 33). A pesar de que el análisis ANOVA no muestra diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 13)} = 1.548$, $P = 0.250$), se obtuvieron cambios en la latencia media. El grupo control tuvo una latencia media de 243.63 ± 86.61 segundos (E.E.M.). En el grupo tratado con 10 mg/Kg de progesterona, se produjo un incremento en la latencia, alcanzando una media de 345.50 ± 112.93

segundos (E.E.M.). Por otro lado, el grupo de 50 mg/Kg tuvo una reducción en la latencia, con una media de 100.88 ± 130.34 segundos (E.E.M.).

Además, la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett indicó que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en comparación con el control ($P > 0.05$).

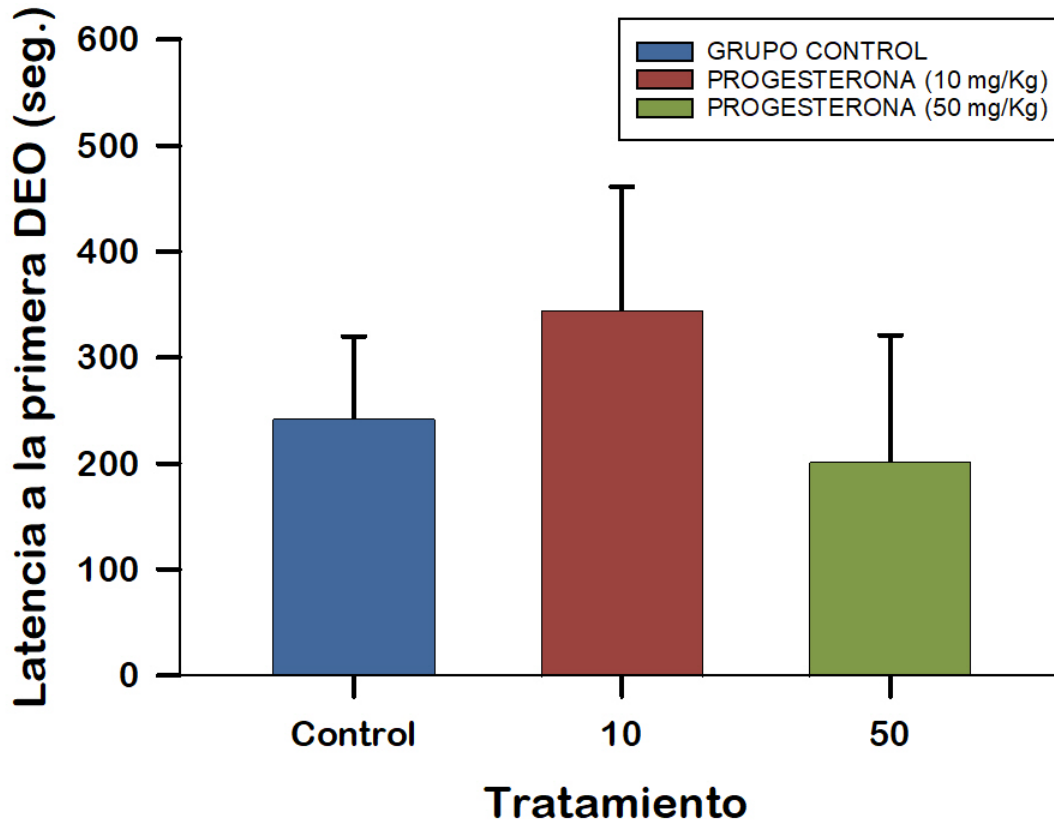


Figura 33. Latencia media a la primera descarga espiga-onda en ratas tratadas con progesterona a dos dosis diferentes. A pesar de las diferencias observadas en la latencia entre los grupos, el análisis ANOVA no encontró diferencias estadísticamente significativas ($F_{(2,13)} = 1.548$, $p = 0.250$). Las comparaciones múltiples realizadas mediante la prueba de Dunnett tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$). Los valores representan la media E.E.M. de cuatro ratas hembra por grupo.

10.-DISCUSIÓN

La comprensión y concientización sobre la epilepsia ha pasado por un largo camino, desde las antiguas interpretaciones que la consideraban un fenómeno divino o posesiones demoniacas hasta los enfoques científicos y multidisciplinarios de la actualidad (Kaculini *et. al.*, 2021). Este viaje histórico nos permite entender cómo ha evolucionado la comprensión y percepción de la epilepsia, desde los primeros conceptos nosológicos hasta las clasificaciones modernas que integran criterios electrofisiológicos y genéticos (Wolf, 2014). A pesar de los avances, aún enfrentamos retos en el diagnóstico, tratamiento y comprensión completa de esta enfermedad cerebral (Wolf, 2014).

Las hormonas esteroides y sus derivados neuroesteroides, desempeñan un papel clave en la regulación de la excitabilidad cerebral, especialmente en las crisis de ausencia, tanto de forma aguda como crónica (van Luijtelaar *et. al.*, 2014a). Un ejemplo notable de esta influencia hormonal es la epilepsia catamenial, que ilustra cómo las fluctuaciones hormonales a lo largo del ciclo menstrual pueden impactar directamente la actividad epiléptica en mujeres (Moscol, 2022). Este tipo de epilepsia afecta a una parte considerable de las mujeres con diagnóstico de epilepsia, y se manifiesta con un incremento en la frecuencia de las crisis en ciertas fases del ciclo menstrual, lo que muestra el papel crítico de las hormonas sexuales en la modulación de la excitabilidad cerebral (Reddy, 2016).

Se han identificado tres tipos principales de epilepsia catamenial: la perimenstrual (C1), la periovulatorio (C2), y la de fase lútea inadecuada (C3) (véase la figura 34). Durante la fase perimenstrual (C1), la disminución abrupta de la progesterona y alopregnanolona incrementan la frecuencia de las crisis (Reddy, 2016). Este hallazgo evidencia la necesidad de ajustar las estrategias terapéuticas para abordar estos cambios hormonales a lo largo del ciclo menstrual es evidente, ya que las variaciones pueden influir tanto en la severidad de las crisis como en la función reproductiva de las pacientes (Reddy, 2016).

Por otro lado, en la fase periovulatoria (C2), el aumento de los niveles de estrógeno puede promover una mayor excitabilidad neuronal, aumentando así el riesgo de crisis en esta etapa. Finalmente, en la fase lútea inadecuada (C3), la insuficiente producción de progesterona contribuye a la inestabilidad neuronal y un mayor número de crisis en mujeres (Reddy, 2016).

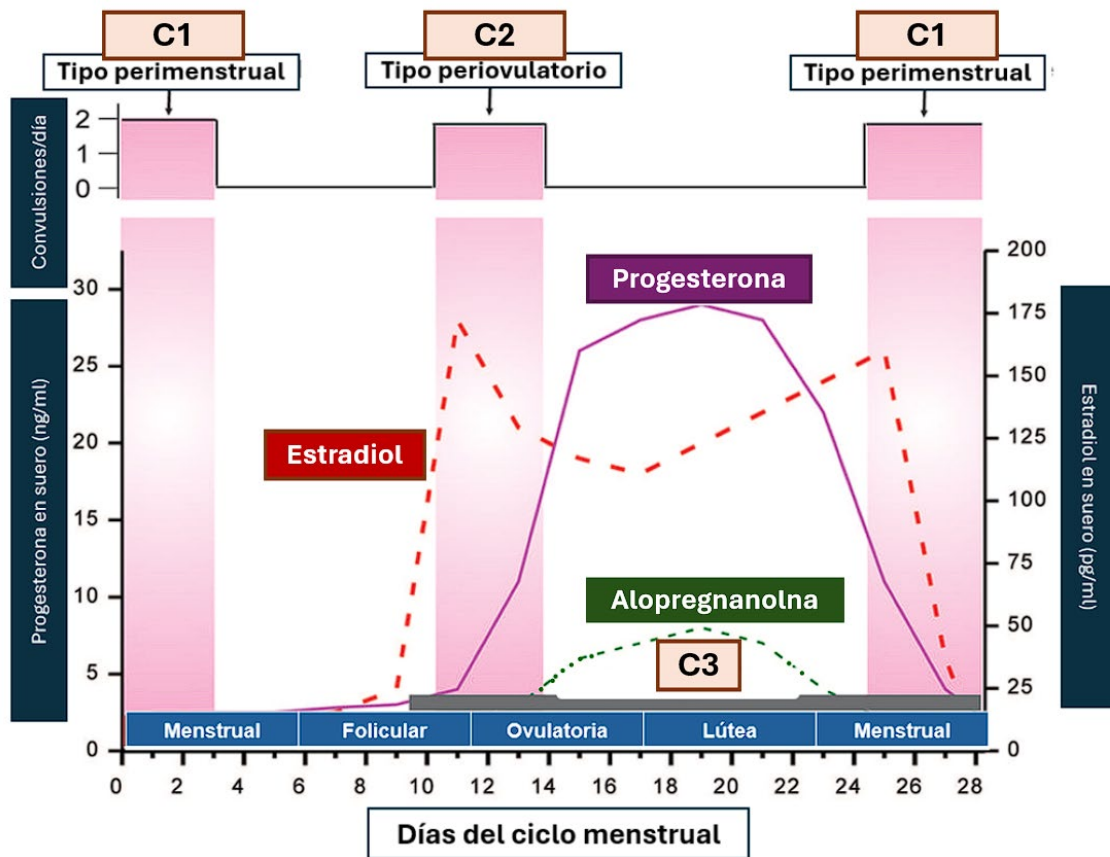


Figura 34. Bases neuroendocrinas de las convulsiones catameniales durante el ciclo menstrual. El gráfico superior ilustra la cronología de las convulsiones catameniales y muestra una correlación significativa entre la frecuencia de las convulsiones y los niveles de estradiol y progesterona. En el panel inferior se presentan los tres subtipos de epilepsia catamenial: perimenstrual (C1), periovulatorio (C2) y lútea inadecuada (C3). Las barras verticales en tonos rosados (izquierda y derecha) indican el periodo probable para el tipo perimenstrual (C1), mientras que la barra rosa central representa el periodo probable para el tipo periovulatorio (C2). La barra horizontal de tono gris oscuro (abajo) indica el subtipo lútea inadecuada (C3), caracterizado por niveles reducidos de progesterona y alopregnanolona (AP), un neuroesteroide derivado de la progesterona (Reddy, 2016).

La progesterona, por ejemplo, ha mostrado tener un efecto proconvulsivo en el contexto de las crisis de ausencia, mientras que el 17β -estradiol parece actuar de manera contraria, mostrando un efecto anti-ausencia (van Luijtelaaar *et. al.*, 2014). La testosterona, por su parte, presenta un comportamiento dual, inicialmente disminuyendo las crisis y posteriormente favoreciendo su aparición en horas más tardías. Esta dualidad en los efectos hormonales se asemeja a lo que se ha documentado con varios fármacos GABAérgicos, donde los resultados varían dependiendo de la dosis y del contexto hormonal (Christian *et. al.*, 2020).

En estudios previos realizados por nuestro equipo de investigación en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor, la administración de 2 mg de testosterona produjo en un incremento significativo tanto en la duración como en la frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras. Sin embargo, en machos, la testosterona disminuyó la frecuencia de las DEO, lo que sugiere un efecto dismórfico en la modulación del circuito tálamo-cortical por esta hormona. Esto refuerza la idea de que la testosterona puede ejercer un papel complejo y diferenciado según el sexo, influyendo de manera significativa en la dinámica de las crisis de ausencia (Castillo, 2023).

La explicación detrás de estos efectos podría implicar tanto la conversión periférica como la síntesis de novo de hormonas sexuales en neuroesteroides dentro del cerebro, que posteriormente actúan directamente sobre los receptores GABA_A, particularmente aquellos que contienen la subunidad δ (Lloyd-Evans y Waller-Evans, 2020). Además, también influyen en la modulación de otros tipos de receptores GABA_A, como los que contienen las subunidades $\gamma 2$, $\alpha 4$ y δ (Evenseth *et. al.*, 2020). Estos cambios en la expresión de subunidades podrían explicar por qué se observan efectos diferentes durante los picos de progesterona, tanto en el ciclo ovárico como durante el embarazo, cuando se ha mostrado un aumento en la frecuencia y duración de las crisis de ausencia (Reddy, 2010; van Luijtelaaar *et. al.*, 2014).

Los resultados obtenidos con progesterona a la dosis baja mostraron un claro efecto reductor en la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda (DEO) en ratas

taiep hembras adultas. A dosis bajas (10 mg/kg), la progesterona parece actuar predominantemente sobre los receptores GABA_A, promoviendo una mayor inhibición en el circuito tálamo-cortical y reduciendo la frecuencia de las descargas espiga-onda. Este efecto sugiere que la progesterona a bajas dosis puede tener un papel anticonvulsivo en el modelo de rata *taiep*, probablemente mediado por su capacidad para potenciar la inhibición GABAérgica (van Luijtelaaar *et. al.*, 2014).

En el contexto de las crisis de ausencia en modelos animales, las ratas WAG/Rij son utilizadas para estudiar la influencia de las hormonas sexuales en la actividad epiléptica. Estudios previos han demostrado que el número de descargas espiga-onda aumentan significativamente durante la fase de proestro, mientras que disminuye en la fase de diestro, lo que refleja cómo las fluctuaciones hormonales a lo largo del ciclo estral modulan la actividad epiléptica en este modelo (van Luijtelaaar *et. al.*, 2001) . Este efecto puede estar relacionado con los cambios en los niveles de progesterona y su interacción con los receptores GABA_A, dado que esta hormona ha demostrado ser un modulador clave de la inhibición tónica en el sistema nervioso central (Majewska, 1996).

Sin embargo, la administración sistémica de progesterona en ratas WAG/Rij incrementa el número de crisis de ausencia, un hallazgo que destaca la complejidad de su acción. Este efecto parece estar mediado por receptores de membrana celular en lugar de receptores nucleares, ya que el bloqueador específico RU-38486 no logra contrarrestar el aumento en las crisis. La progesterona, a través de su interacción con los receptores GABA_A, generalmente actúa potenciando la inhibición tónica en el sistema nervioso central, lo que reduciría la actividad epiléptica. Sin embargo, en este caso, su efecto paradójico podría estar relacionado con un desequilibrio en el circuito tálamo-cortical, donde la modulación excesiva de la inhibición puede desregular la sincronización neuronal y facilitar la aparición de descargas espiga-onda (van Luijtelaaar *et. al.*, 2001). Esta dualidad resalta cómo la acción de la progesterona depende del contexto fisiológico y de las interacciones específicas con sus receptores. Por ejemplo, factores como la etapa del ciclo estral, las fluctuaciones hormonales durante el embarazo o incluso la dosis administrada

pueden influir significativamente en su efecto sobre las crisis de ausencia, como se muestra en la figura 35.

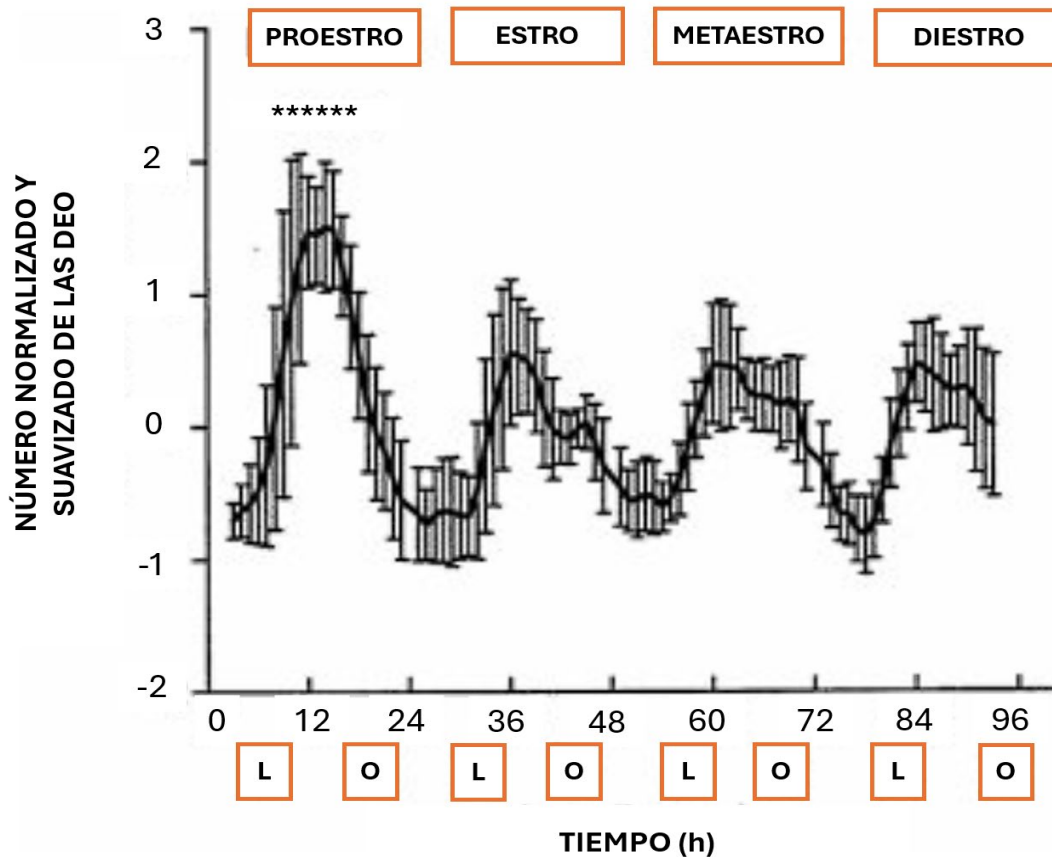


Figura 35. Descargas espiga-onda a lo largo de los cuatro días del ciclo estral en ratas WAG/Rij. Se observa un aumento significativo de las DEO en las primeras horas del periodo oscuro durante la fase de proestro (marcado con asteriscos). ‘L’ y ‘O’ indican las fases de luz y oscuridad, respectivamente, a lo largo del ciclo de 24 horas (modificado de van Luijtelaa *et. al.*, 2001).

Por otro lado, durante el embarazo, se ha observado una disminución significativa en la frecuencia y duración de las crisis de ausencia desde el día 3 hasta el día 18 de gestación, coincidiendo con los niveles máximos de progesterona en este periodo (Tolmacheva *et. al.*, 2004b). Esto refuerza el papel de la progesterona como regulador crítico de las descargas espiga-onda, aunque su efecto es claramente dependiente del contexto fisiológico y hormonal. La interacción entre las fases del ciclo hormonal, el embarazo y los receptores GABA_A plantea una dinámica compleja

que es crucial para comprender el comportamiento de las crisis de ausencia en modelos animales.

La disminución de las descargas espiga-onda con esta dosis podría explicarse por la conversión de la progesterona en alopregnanolona, un neuroesteroide que ejerce efectos potenciadores sobre los receptores GABA_A (Reddy, 2016), lo cual disminuye la excitabilidad del tálamo y limita la sincronización de las neuronas talámicas, un mecanismo crucial para la generación de las crisis de ausencia (Belelli y Lambert, 2005). La inhibición tónica también contribuye a estabilizar la actividad neuronal, reduciendo la propagación de la actividad epiléptica hacia la corteza cerebral (Brickle y Mody, 2012).

Estudios previos en modelos de epilepsia de ausencia han demostrado que la progesterona a dosis bajas puede reducir significativamente la frecuencia y duración de las crisis, actuando como un agente anticonvulsivo a través de la potenciación de la neurotransmisión GABAérgica (Reddy, 2016; van Luijtelaa *et. al.*, 2014a). Este efecto anticonvulsivo está mediado, en parte, por la modulación de los receptores GABA_A y la disminución de la excitación neuronal en el circuito talamo-cortical, lo cual refuerza la hipótesis de que la progesterona a dosis específicas podría tener aplicaciones terapéuticas en el manejo de la epilepsia del tipo crisis ausencia (Reddy, 2016).

La alopregnanolona es un metabolito neuroactivo de la progesterona, en este estudio demostró que tiene un efecto en incrementar tanto de la frecuencia como de la duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras adultas. Este hallazgo sugiere que la alopregnanolona, actuando principalmente en el tálamo, podría desempeñar un papel clave en la facilitación de la actividad epiléptica en la rata *taiep*. Este metabolito de la progesterona puede actuar sobre los receptores GABA_A en el tálamo, alterando la inhibición tónica de manera que favorece la aparición de descargas espiga-onda (Reddy, 2016; Belelli y Lambert, 2005). Este mecanismo podría explicar los efectos proconvulsivos observados en las ratas tratadas con alopregnanolona, particularmente en etapas como la fase lútea y el embarazo, cuando los niveles de esta hormona son elevados (Herzog, 2008).

La administración de 50 mg/Kg de progesterona mostró un incremento significativo tanto en la frecuencia como en la duración de las DEO en ratas *taiep*. Este resultado demuestra el efecto dual de la progesterona, donde dosis más altas pueden tener un efecto proconvulsivo, probablemente mediado por la conversión de la progesterona en su metabolito alopregnanolona (Reddy, 2010; van Luijtelaar *et. al.*, 2014). La conversión a alopregnanolona a dosis elevadas podría estar superando la capacidad de los receptores GABA_A para generar una inhibición efectiva, lo que resulta en una mayor sincronización neuronal y en un aumento de la actividad epiléptica.

En estudios realizados en modelos de epilepsia de ausencia, se ha comprobado que la finasterida, un inhibidor de la 5 α -reductasa, bloquea la conversión de progesterona a alopregnanolona, reduciendo así el número de descargas espigonda inducidas por la progesterona en ratas WAG/Rij (van Luijtelaar *et. al.*, 2003). Este hallazgo sugiere que el aumento en la actividad epiléptica inducida por la progesterona podría estar mediado principalmente por la alopregnanolona. La combinación de finasterida con progesterona disminuyó las DEO a niveles cercanos a los del grupo control, lo que indica que intervenciones dirigidas a bloquear la síntesis de alopregnanolona podrían ser una estrategia prometedora en el tratamiento de la epilepsia de ausencia.

La alopregnanolona, a concentraciones elevadas, podría desempeñar un papel clave en la exacerbación de las crisis de ausencia. Esto es particularmente relevante durante la fase lútea del ciclo estral y el embarazo, donde los niveles de progesterona son altos, lo cual podría contribuir a un aumento en la frecuencia de las crisis en mujeres con epilepsia catamenial durante estas fases del ciclo hormonal (Herzog, 2008; Eguibar *et. al.*, 2024).

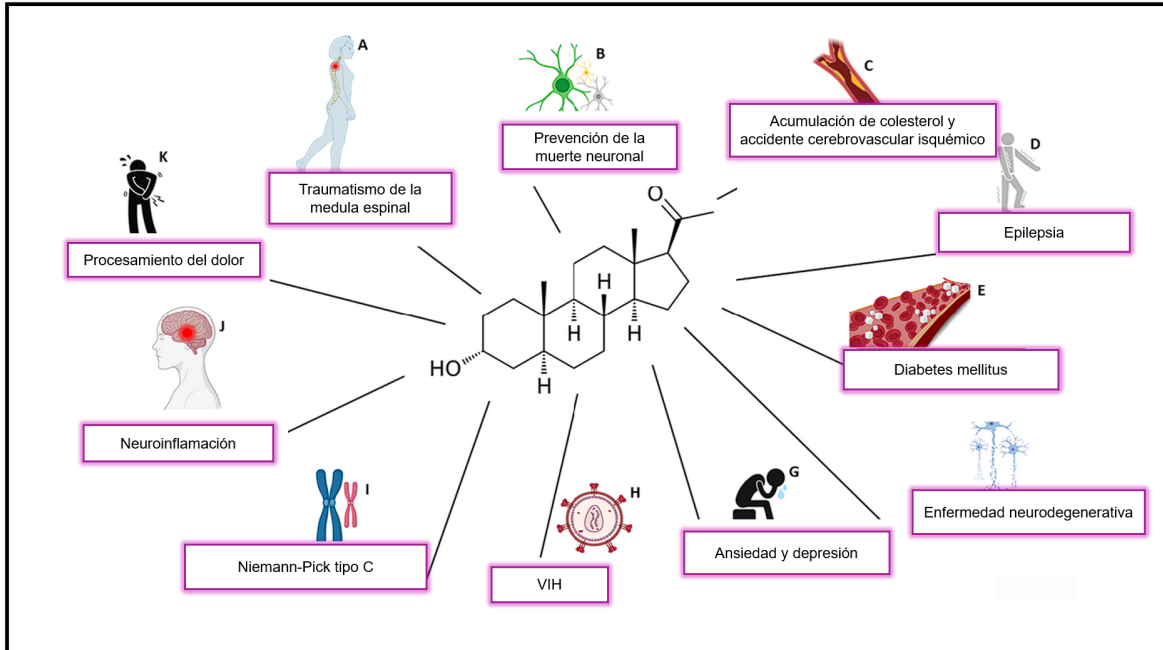


Figura 35: Efectos neuroprotectores de la alopregnanolona. El tratamiento con este neuroesteroide muestra: (A) beneficios en el tratamiento de lesiones de la médula espinal, (B) prevención de la muerte de neuronas, (C) reducción en la acumulación de colesterol y prevención de accidentes cerebrovasculares, (D) disminución de los episodios epilépticos, (E) efectos positivos en el daño nervioso causado por la diabetes mellitus, (F) protección contra enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, el Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica, (G) acciones ansiolíticas y antiestrés, (H) efectos protectores contra la neurotoxicidad inducida por el VIH, (I) protección en modelos experimentales de la enfermedad de Niemann-Pick tipo C y (J) condiciones neuroinflamatorias como la esclerosis múltiple y la encefalomielitis autoinmune experimental, y (K) efectos analgésicos contra el dolor neuropático (Modificado de Hou et. al., 2023).

En nuestro estudio, tras la administración de alopregnanolona a una dosis de 10 mg/Kg en ratas *taiep* hembras adultas se obtuvo un incremento tanto en la frecuencia como en la duración de las descargas espiga-onda. Este resultado respalda la hipótesis de que la alopregnanolona, como metabolito neuroactivo de la progesterona, desempeña un papel crucial en la modulación de la actividad epiléptica en el circuito tálamo-cortical, actuando sobre los receptores GABA_A en el tálamo y alterando la inhibición tónica de una manera que facilita la aparición de las descargas espiga-onda

Además, nuestros resultados sugieren que la alopregnanolona, como metabolito neuroactivo de la progesterona, podría estar modulando la actividad epiléptica a través de su acción sobre los receptores GABA_A (véase figura 36). La alopregnanolona ejerce sus efectos al unirse a sitios alostéricos en las interfaces entre las subunidades α y β del receptor, lo que potencia la acción del GABA, el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (Belelli y Lambert, 2005a). Esta interacción aumenta la conductancia del cloro, estabilizando la membrana neuronal y reduciendo la excitabilidad en condiciones fisiológicas normales.

En el contexto de las crisis de ausencia, la inhibición tónica promovida por los receptores GABA_A puede desempeñar un papel dual. A concentraciones moderadas de alopregnanolona, esta interacción puede reducir la excitabilidad del circuito tálamo-cortical, disminuyendo la frecuencia de las crisis. Sin embargo, a concentraciones elevadas, como las observadas con dosis de 10 mg/kg en nuestro estudio, esta acción puede alterar el equilibrio entre inhibición y excitación de manera que facilita la sincronización neuronal, un mecanismo clave en la generación de las descargas espiga-onda (Brickley y Mody, 2012; Reddy, 2016). Esto podría explicar el aumento en la frecuencia y duración de las crisis tras la administración de esta dosis en las ratas *taiep* hembras adultas.

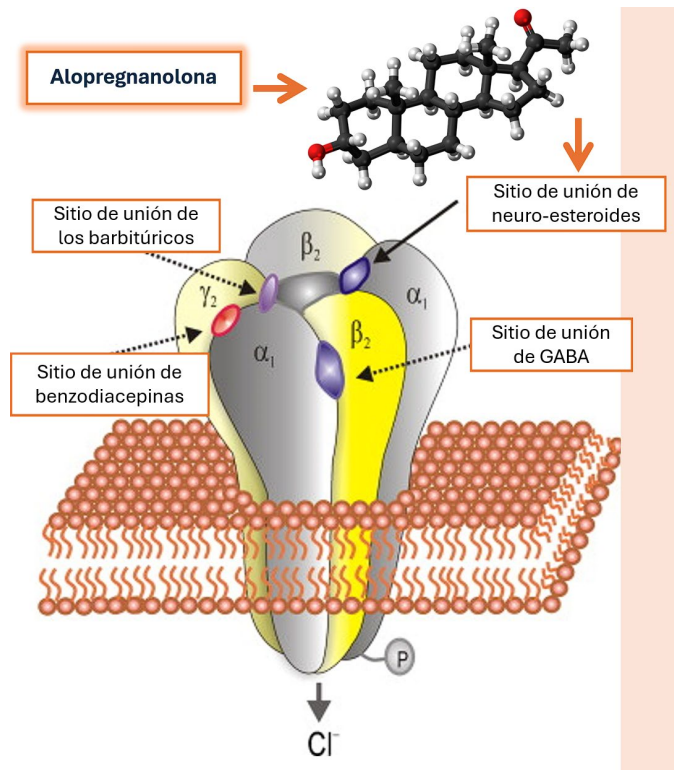


Figura 36: La alopregnanolona se une a sitios específicos de neuroesteroides en las subunidades α y β , modulando la conductancia de cloro y afectando la excitabilidad neuronal.

Estos resultados resaltan la complejidad del papel de la progesterona y sus metabolitos en la epilepsia de ausencia, mostrando cómo el contexto de dosis y el metabolismo pueden influir en la modulación de la actividad epiléptica. La comprensión de este efecto dosis-dependiente es crucial para el desarrollo de estrategias terapéuticas más eficaces en el manejo de la epilepsia, especialmente en mujeres que experimentan fluctuaciones hormonales significativas a lo largo de su ciclo reproductivo.

En conjunto, los hallazgos de este estudio destacan la importancia de considerar el contexto hormonal y los efectos dosis-dependientes de la progesterona y sus metabolitos, como la alopregnanolona, en la modulación de las crisis de ausencia. Esto no solo amplía nuestra comprensión de los mecanismos neuroquímicos involucrados, sino que también plantea nuevas perspectivas para el desarrollo de tratamientos más específicos y efectivos.

Estos resultados subrayan la necesidad de adoptar un enfoque individualizado en el manejo de la epilepsia de ausencia, particularmente en mujeres, teniendo en cuenta las fluctuaciones hormonales asociadas al ciclo menstrual, el embarazo y la menopausia. Al avanzar en esta dirección, será posible diseñar estrategias terapéuticas que no solo sean más efectivas, sino también más seguras para las pacientes.

11.-CONCLUSIONES

1. Este estudio demuestra, por primera vez, el impacto de la alopregnanolona y diferentes dosis de progesterona en la rata *taiep*, proporcionando nuevas perspectivas sobre el papel de estas hormonas en la modulación de las descargas espiga-onda y la epilepsia.
2. Los resultados indican que la progesterona a una dosis de 10 mg/Kg tiene un efecto anticonvulsivo, al disminuir significativamente la frecuencia de las DEO en ratas *taiep* hembras ovariectomizadas en estro persistente. Este hallazgo sugiere que las dosis bajas de progesterona pueden actuar favoreciendo la inhibición neuronal a través de los receptores GABA_A.
3. Por el contrario, la administración de 50 mg/Kg de progesterona incrementa tanto la frecuencia como la duración de las DEO, mostrando un efecto proconvulsivo dosis-dependiente, probablemente mediado por la conversión de la progesterona en alopregnanolona, lo que resalta la dualidad de sus efectos.
4. La alopregnanolona a una dosis de 10 mg/Kg aumenta significativamente la frecuencia y duración de las DEO, sugiriendo que su acción sobre los receptores GABA_A en el tálamo puede desregular la inhibición neuronal y facilitar la sincronización talámico-cortical, un mecanismo clave en la generación de las crisis de ausencia.

5. La modulación del receptor GABA_A por la alopregnanolona y la progesterona en dosis bajas emerge como un factor crucial en la regulación de la actividad epiléptica en este modelo de rata *taiep*, destacando la importancia del balance entre inhibición y excitación en el circuito tálamo-cortical.
6. En conjunto, los hallazgos de este trabajo proporcionan evidencia sólida de que las descargas espiga-onda en los procesos de epilepsia en las ratas *taiep* están influenciadas por la acción de la progesterona y sus metabolitos. Estos resultados abren nuevas posibilidades para explorar terapias hormonales personalizadas en condiciones epilépticas, considerando el contexto dosis-dependiente y las particularidades del modelo rata *taiep*.

12.-PERSPECTIVAS

1. Dosis Intermedia de P4

- Probar el efecto de una dosis intermedia de 25 mg/kg de P4 para determinar si existe un balance entre los efectos proconvulsivos y anticonvulsivos.

2. Uso de Inhibidores en los Experimentos

- Implementar inhibidores de la 5-alfa-reductasa, como el **finasteride**, para estudiar su impacto en la conversión de la progesterona a metabolitos como la alopregnanolona.
- Utilizar **letrozol**, un inhibidor de la aromatasa, para investigar la modulación del equilibrio hormonal y su efecto en la actividad epiléptica.

3. Estudio de la No Estrogenización en Hembras

- Evaluar los efectos de la no estrogenización en hembras para observar si aparecen nuevos receptores de progesterona y su impacto en la actividad neuronal.

4. Combinación de Tratamientos

- Probar combinaciones de progesterona con **finasteride** o con **Mifepristona (RU-486)** para evaluar el impacto en la modulación de las crisis epilépticas.

13.-REFERENCIAS

- Adibi, M., 2019. Whisker-Mediated Touch System in Rodents: From Neuron to Behavior. *Front Syst Neurosci* 13. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2019.00040>
- Akwa, Y., Sananès, N., Gouézou, M., Robel, P., Baulieu, E.E., Le Goascogne, C., 1993. Astrocytes and neurosteroids: metabolism of pregnenolone and dehydroepiandrosterone. Regulation by cell density. *J Cell Biol* 121, 135–143. <https://doi.org/10.1083/jcb.121.1.135>
- Alata, M., González-Vega, A., Piazza, V., Kleinert-Altamirano, A., Cortes, C., Ahumada-Juárez, J.C., Eguibar, J.R., López-Juárez, A., Hernandez, V.H., 2021. Longitudinal Evaluation of Cerebellar Signs of H-ABC Tubulinopathy in a Patient and in the taiep model *front neurol*. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.702039>
- Ashrafi, M.R., Amanat, M., Garshasbi, M., Kameli, R., Nilipour, Y., Heidari, M., Rezaei, Z., Tavasoli, A.R., 2020. An update on clinical, pathological, diagnostic, and therapeutic perspectives of childhood leukodystrophies. *Expert Rev Neurother* 20, 65–84. <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1699060>
- Bäckström, B.Z.S.B.M.R., 1990. Effects of intravenous progesterone infusions on the epileptic discharge frequency in women with partial epilepsy.
- Balan, I., Beattie, M.C., O'Buckley, T.K., Aurelian, L., Morrow, A.L., 2019. Endogenous Neurosteroid (3 α ,5 α)3-Hydroxypregnan-20-one Inhibits Toll-like-4 Receptor Activation and Pro-inflammatory Signaling in Macrophages and Brain. *Sci Rep* 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37409-6>
- Banerjee, P.N., Filippi, D., Allen Hauser, W., 2009. The descriptive epidemiology of epilepsy-A review *epilepsy* . <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.03.003>
- Belelli, D., Lambert, J.J., 2005. Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA_A receptor. *Nat Rev Neurosci* 6, 565–575. <https://doi.org/10.1038/nrn1703>
- Ben-Menachem, E., Grebe, H.P., Terada, K., Jensen, L., Li, T., De Backer, M., Steiniger-Brach, B., Gasalla, T., Brock, M., Biton, V., 2019. Long-term safety and efficacy of lacosamide and controlled-release carbamazepine monotherapy in patients with newly diagnosed epilepsy. *Epilepsia* 60, 2437–2447. <https://doi.org/10.1111/epi.16381>
- Beyer, C., Gonzalez-Flores, O., Gonzalez-Mariscal, G., 1995. Ring a reduced progestins potently stimulate estrous behavior in rats: Paradoxical effect through the progesterone receptor. *Physiol Behav* 58, 985–993. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)00141-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)00141-5)

- Brickley, S.G., Mody, I., 2012. Extrasynaptic GABA_A Receptors: Their Function in the CNS and Implications for Disease. *Neuron* 73, 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.012>
- Brinton, R.D., Thompson, R.F., Foy, M.R., Baudry, M., Wang, J., Finch, C.E., Morgan, T.E., Pike, C.J., Mack, W.J., Stanczyk, F.Z., Nilsen, J., 2008. Progesterone receptors: Form and function in brain. *Front Neuroendocrinol* 29, 313–339. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2008.02.001>
- Brunton, P.J., Russell, J.A., Hirst, J.J., 2014. Allopregnanolone in the brain: Protecting pregnancy and birth outcomes. *Prog Neurobiol.* <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.08.005>
- Burguera Hernández, J.A., 2010. Diagnóstico clínico de la enfermedad de Parkinson. ¿Se podrá conocer la base genética de la enfermedad de Parkinson esporádica? *Rev Neurol* 50, 13. <https://doi.org/10.33588/rn.50S04.2010111>
- Buterbaugh, G.G., 1989. Estradiol replacement facilitates the acquisition of seizures kindled from the anterior neocortex in female rats. *Epilepsy Res* 4, 207–215. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(89\)90005-3](https://doi.org/10.1016/0920-1211(89)90005-3)
- Castellano, D., Shepard, R.D., Lu, W., 2021. Looking for Novelty in an “Old” Receptor: Recent Advances Toward Our Understanding of GABAARs and Their Implications in Receptor Pharmacology. *Front Neurosci.* <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.616298>
- Castellanos-Villegas, A.E., Hernández-García, J.D., Vázquez-Martínez, E.R., 2023. Papel de las hormonas progesterona, estradiol y oxitocina en la función del miometrio durante el embarazo y el trabajo de parto. *Revista Perinatología y Reproducción Humana* 37. <https://doi.org/10.24875/PER.22000013>
- Castillo, Rubé., 2023. Papel de la testosterona en las crisis de ausencia de la rata taiep. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla.
- Christian, C.A., Reddy, D.S., Maguire, J., Forcelli, P.A., 2020. Sex Differences in the Epilepsies and Associated Comorbidities: Implications for Use and Development of Pharmacotherapies. *Pharmacol Rev* 72, 767–800. <https://doi.org/10.1124/pr.119.017392>
- Coenen, A.M.L., Van Luijtelaar, E.L.J.M., 2003a. Genetic Animal Models for Absence Epilepsy: A Review of the WAG/Rij Strain of Rats, *Behavior Genetics*.
- Contreras, D., Steriade, M., 1995. Cellular basis of EEG slow rhythms: a study of dynamic corticothalamic relationships. *The Journal of Neuroscience* 15, 604–622. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-01-00604.1995>

- Cortés, Ma.D.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. <https://doi.org/10.1002/syn.20188>
- Cossette, P., Liu, L., Brisebois, K., Dong, H., Lortie, A., Vanasse, M., Saint-Hilaire, J.-M., Carmant, L., Verner, A., Lu, W.-Y., Tian Wang, Y., Rouleau, G.A., 2002. Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 31, 184–189. <https://doi.org/10.1038/ng885>
- Couve, E., Roncagliolo, M., Krsulovic, J., 1999. Dysmyelination, demyelination and reactive astrogliosis in the optic nerve of the taiep rat. *Biol Res* 32. <https://doi.org/10.4067/S0716-97601999000400005>
- Cowan, L.D., 2002. The epidemiology of the epilepsies in children. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 8, 171–181. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10035>
- Crunelli, V., David, F., Lőrincz, M.L., Hughes, S.W., 2015. The thalamocortical network as a single slow wave-generating unit. *Curr Opin Neurobiol* 31, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.09.001>
- Crunelli, V., Leresche, N., 2002. Childhood absence epilepsy: Genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci* 3, 371–382. <https://doi.org/10.1038/nrn811>
- Cruz-Cruz, M. del R., Gallardo-Elías, J., Paredes-Solís, S., Legorreta-Soberanis, J., Flores-Moreno, M., Andersson, N., 2017. Factors associated with epilepsy in children in Mexico: A case-control study. *Bol Med Hosp Infant Mex* 74, 334–340. <https://doi.org/10.1016/j.bmhix.2017.05.006>
- Dale Purves, 2001. *Neuroscience*, 2°. ed. SINAUR ASSOCIATES, New York.
- Depaulis, A., Charpier, S., 2018. Pathophysiology of absence epilepsy: Insights from genetic models. *Neurosci Lett*. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.02.035>
- Durá Travé, T., Yoldi Petri, M. ^aE., Gallinas Victoriano, F., 2007. Incidencia de la epilepsia infantil. *An Pediatr (Engl Ed)* 67, 37–43. <https://doi.org/10.1157/13108084>
- Durá Travé, T., Yoldi Petri, M.E., 2006a. Ausencias típicas: características epidemiológicas, clínicas y evolutivas. *An Pediatr (Engl Ed)* 64, 28–33. [https://doi.org/10.1016/S1695-4033\(06\)70005-4](https://doi.org/10.1016/S1695-4033(06)70005-4)
- Durá Travé, T., Yoldi Petri, M.E., 2006b. Ausencias típicas: características epidemiológicas, clínicas y evolutivas. *An Pediatr (Engl Ed)* 64, 28–33. [https://doi.org/10.1016/S1695-4033\(06\)70005-4](https://doi.org/10.1016/S1695-4033(06)70005-4)
- Eguibar, J.R., Cortes, C., Ahumada-Juárez, J.C., Piazza, V., Hernandez Gonzalez, V.H., 2021. The myelin mutant taiep rat as a model for developmental brain disorders, in: *Diagnosis, Management and Modeling of Neurodevelopmental*

Disorders. Elsevier, pp. 557–566. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817988-8.00049-X>

Eguibar, J.R., Del, M., Cortés, C., 2010a. Crisis de ausencia en roedores Modelos de crisis de ausencia en roedores.

Elston, G.N., 2000. Pyramidal Cells of the Frontal Lobe: All the More Spinous to Think With. *The Journal of Neuroscience* 20, RC95–RC95. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-18-j0002.2000>

Evenseth, L.S.M., Gabrielsen, M., Sylte, I., 2020. The GABAB Receptor—Structure, Ligand Binding and Drug Development. *Molecules* 25, 3093. <https://doi.org/10.3390/molecules25133093>

Falkenstein, E., Tillmann, H.C., Christ, M., Feuring, M., Wehling, M., 2000. Multiple actions of steroid hormones--a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev* 52, 513–56.

Fevold, H.R., Lorence, M.C., McCarthy, J.L., Trant, J.M., Kagimoto, M., Waterman, M.R., Mason, J.I., 1989. Characterization of a full-length cDNA encoding a unique steroid hydroxylase capable of catalyzing. *Molecular Endocrinology* 3, 968–975. <https://doi.org/10.1210/mend-3-6-968>

Fisher, R.S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J.H., Elger, C.E., Engel, 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. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>

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. <https://doi.org/10.1111/epi.13670>

Follesa, P., Concas, A., Porcu, P., Sanna, E., Serra, M., Mostallino, M.C., Purdy, R.H., Biggio, G., 2001. Role of allopregnanolone in regulation of GABA receptor plasticity A during long-term exposure to and withdrawal from progesterone a a a, *Brain Research Reviews*.

Frye, C.A., 1995. The neurosteroid 3 α ,5 α -THP has antiseizure and possible neuroprotective effects in an animal model of epilepsy. *Brain Res* 696, 113–120. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00793-P](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00793-P)

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. <https://doi.org/10.1002/syn.20622>

- Garcia-Segura, L.M., Wozniak, A., Azcoitia, I., Rodriguez, J.R., Hutchison, R.E., Hutchison, J.B., 1999. Aromatase expression by astrocytes after brain injury: implications for local estrogen formation in brain repair. *Neuroscience* 89, 567–578. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00340-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00340-6)
- Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortes, C., Eguibar, J.R., Pantano, S., Hernandez, V.H., 2020a. MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Front Neurosci* 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00555>
- Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortes, C., Eguibar, J.R., Pantano, S., Hernandez, V.H., 2020b. MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Front Neurosci* 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00555>
- George Paxinos, Charles Watson, 2013. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier Science 7.
- Ghit, A., Assal, D., Al-Shami, A.S., Hussein, D.E.E., 2021. GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 19, 123. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00224-0>
- Gómez-Chang, E., Larrea, F., Martínez-Montes, F., De Revisión, A., 2012. Vías de señalización asociadas a las esteroidogénesis, D.R. © TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas.
- Grünwald, R.A., Aliberti, V., Panayiotopoulos, C.P., 1992. Exacerbation of typical absence seizures by progesterone. *Seizure* 1, 137–138. [https://doi.org/10.1016/1059-1311\(92\)90012-P](https://doi.org/10.1016/1059-1311(92)90012-P)
- Guennoun, R., Fiddes, R.J., Gouézou, M., Lombès, M., Baulieu, E.-E., 1995. A key enzyme in the biosynthesis of neurosteroids. *Molecular Brain Research* 30, 287–300. [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(95\)00016-L](https://doi.org/10.1016/0169-328X(95)00016-L)
- Guyton Arthur, Hall Jhon, 2016. *Tratado de Fisiología Médica*, 13th ed.
- Haraguchi, S., Hara, S., Ubuka, T., Mita, M., Tsutsui, K., 2012. Possible role of pineal allopregnanolone in Purkinje cell survival. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 21110–21115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1210804109>
- Hatori, M., Hirota, T., Iitsuka, M., Kurabayashi, N., Haraguchi, S., Kokame, K., Sato, R., Nakai, A., Miyata, T., Tsutsui, K., Fukada, Y., 2011. Light-dependent and circadian clock-regulated activation of sterol regulatory element-binding protein, X-box-binding protein 1, and heat shock factor pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 4864–4869. <https://doi.org/10.1073/pnas.1015959108>

- Hernández Emmanuel, 2021. Caracterización de las crisis de ausencia en la rata taiep hembra adulta bajo la administración central de prolactina. *Instituto de Fisiología*.
- Herzog, A.G., 2008. Catamenial epilepsy: Definition, prevalence pathophysiology and treatment. *Seizure* 17, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2007.11.014>
- Hill, S., Tononi, G., 2005. Modeling sleep and wakefulness in the thalamocortical system. *J Neurophysiol* 93, 1671–1698. <https://doi.org/10.1152/jn.00915.2004>
- Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L., Vega-Saenz de Miera, E.C., 1989. Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Lab Anim Sci* 39, 226–8.
- Hou, Y., Lv, J., Guo, Y., Fang, J., Huang, C., Zhang, W., Jia, X., You, S., Qin, B., 2023. Stereoselective synthesis of allopregnanolone catalyzed by ketoreductase. *Molecular Catalysis* 548. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2023.113433>
- Ibarra Juan, 2022. Participación del núcleo reticular talámico en la generación de las descargas espiga-onda en ratas taiep adultas. . *Instituto de fisiología*.
- Isaksson, I.M., Theodorsson, A., Theodorsson, E., Strom, J.O., 2011. Methods for 17β -oestradiol administration to rats. *Scand J Clin Lab Invest* 71, 583–592. <https://doi.org/10.3109/00365513.2011.596944>
- Jafarian, M., Alipour, M.E., Karimzadeh, F., 2020. Review paper: Experimental models of absence epilepsy. *Basic Clin Neurosci*. <https://doi.org/10.32598/BCN.11.6.731.1>
- Jarre, G., Guillemain, I., Deransart, C., Depaulis, A., 2017. Genetic Models of Absence Epilepsy in Rats and Mice, in: *Models of Seizures and Epilepsy*. Elsevier, pp. 455–471. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804066-9.00033-X>
- Jeffrey D. Kennedy; y Melissa J. Chen, 2019. *Women and Epilepsy*.
- Jose R. Eguibar, Carmes Cortes, Juan M. Ibarra-Hernandez, Angelica Trujillo, 2024. *Sex and Cerebral Disease*.
- Joshi, S., Kapur, J., 2019. Neurosteroid regulation of GABAA receptors: A role in catamenial epilepsy. *Brain Res*. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.02.031>
- Kaculini, C.M., Tate-Looney, A.J., Seifi, A., 2021. The History of Epilepsy: From Ancient Mystery to Modern Misconception. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.13953>

- Kapur, J., Joshi, S., 2021a. Progesterone modulates neuronal excitability bidirectionally. *Neurosci Lett* 744, 135619. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135619>
- Karabulut, S., Bayramov, R., Bayramov, K.K., Filiz, A.K., Taskiran, A.S., Ozdemir, E., 2018. Effect of the allopregnanolone and allotetrahydrodeoxycorticosteron on spike-wave discharges in the EEG of absence epilepsy rat models. *Gen Physiol Biophys* 37, 205–211. https://doi.org/10.4149/gpb_2017041
- 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. [https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(00\)00399-0](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(00)00399-0)
- Kovács, Z., Dobolyi, Á., Juhász, G., Kékesi, K.A., 2014. Lipopolysaccharide induced increase in seizure activity in two animal models of absence epilepsy WAG/Rij and GAERS rats and Long Evans rats. *Brain Res Bull* 104, 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2014.03.003>
- Kovács, Z., Lakatos, R.K., Barna, J., Dobolyi, Á., 2017. Absence epileptic activity in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rat mothers. *Brain Res* 1657, 368–376. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.01.005>
- Krajka, V., Vulinovic, F., Genova, M., Tanzer, K., Jijumon, A.S., Bodakuntla, S., Tennstedt, S., Mueller-Fielitz, H., Meier, B., Janke, C., Klein, C., Rakovic, A., 2022. H-ABC-and dystonia-causing TUBB4A mutations show distinct pathogenic effects, *Sci. Adv.*
- Kwan, P., Brodie, M.J., 2000. Early Identification of Refractory Epilepsy. *New England Journal of Medicine* 342, 314–319. <https://doi.org/10.1056/NEJM200002033420503>
- Larsen Reed, 2003. Thyroid Physiology and Metabolism, in: *Williams Textbook of Endocrinology*.
- Laurence L., Brunton, BjÖrn C., Knollman, 2023. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 14th Edition, 14th ed.
- Le Goascogne, C., Robel, P., Gouézou, M., Sananes, N., Baulieu, E.-E., Waterman, M., 1987. Neurosteroids: Cytochrome P-450 in Rat Brain. *Science* (1979) 237, 1212–1215. <https://doi.org/10.1126/science.3306919>
- Lloyd-Evans, E., Waller-Evans, H., 2020. Biosynthesis and signalling functions of central and peripheral nervous system neurosteroids in health and disease. *Essays Biochem* 64, 591–606. <https://doi.org/10.1042/EBC20200043>
- 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., 2021. Auditory impairment in H-ABC tubulinopathy. *Journal of Comparative Neurology* 529, 957–968. <https://doi.org/10.1002/cne.24990>
- Löscher, W., Potschka, H., Sisodiya, S.M., Vezzani, A., 2020. Drug Resistance in Epilepsy: Clinical Impact, Potential Mechanisms, and New Innovative Treatment Options. *Pharmacol Rev* 72, 606–638. <https://doi.org/10.1124/pr.120.019539>
- Löscher, W., Rogawski, M.A., 2012. How theories evolved concerning the mechanism of action of barbiturates. *Epilepsia* 53 Suppl 8, 12–25. <https://doi.org/10.1111/epi.12025>
- Lunn, K.F., Baas, P.W., Duncan, I.D., 1997. Microtubule Organization and Stability in the Oligodendrocyte. *The Journal of Neuroscience* 17, 4921–4932. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-13-04921.1997>
- 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. *Neurobiol Dis* 47, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.03.023>
- MacAllister, W.S., Schaffer, S.G., 2007. Neuropsychological deficits in childhood epilepsy syndromes. *Neuropsychol Rev*. <https://doi.org/10.1007/s11065-007-9048-4>
- Majewska, M.D., 1996. Cocaine addiction as a neurological disorder: implications for treatment. *NIDA Res Monogr* 163, 1–26.
- Majewska, M.D., Harrison, N.L., Schwartz, R.D., Barker, J.L., Paul, S.M., 1986. Steroid Hormone Metabolites Are Barbiturate-Like Modulators of the GABA Receptor. *Science* (1979) 232, 1004–1007. <https://doi.org/10.1126/science.2422758>
- Marescaux, C., Vergnes, M., 1995. Genetic Absence Epilepsy in Rats from Strasbourg (GAERS). *The Italian Journal of Neurological Sciences* 16, 113–118. <https://doi.org/10.1007/BF02229083>
- Marescaux, C., Vergnes, M., Depaulis, A., 1992. Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg — A review, in: *Generalized Non-Convulsive Epilepsy: Focus on GABA-B Receptors*. Springer Vienna, Vienna, pp. 37–69. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9206-1_4
- Mariko Usui, Takeshi Yamazaki, Shiro Kominami, Kazuyoshi Tsutsui, 1995. Avian neurosteroids. II. Localization of a cytochrome P450scc-like substance in the quail brain. *Brain Res* 678, 10–20. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00117-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00117-9)
- Melcangi, R.C., Celotti, F., Martini, L., 1994. Progesterone 5- α -reduction in neuronal and in different types of glial cell cultures: type 1 and 2 astrocytes and

- oligodendrocytes. *Brain Res* 639, 202–206. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91731-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91731-0)
- Mohamad, F.H., Mohamad Jamali, M.A., Che Has, A.T., 2023. Structure-function Studies of GABA (A) Receptors and Related computer-aided Studies. *Journal of Molecular Neuroscience* 73, 804–817. <https://doi.org/10.1007/s12031-023-02158-3>
- 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. *J Neurochem* 69, 773–779. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69020773.x>
- Moncada, S., Higgs, E.A., 2006. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol* 147. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706458>
- Olsen, R.W., Sieghart, W., 2008a. International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of γ -aminobutyric acidA receptors: Classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. *Pharmacol Rev*. <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>
- Olsen, R.W., Sieghart, W., 2008b. International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of γ -aminobutyric acidA receptors: Classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. *Pharmacol Rev*. <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>
- Organización Mundial de la Salud, 2019. *epilepsia; Un imperativo de salud pública.*
- Osawa, Y., Higashiyama, T., Shimizu, Y., Yarborough, C., 1993. Multiple functions of aromatase and the active site structure; aromatase is the placental estrogen 2-hydroxylase. *J Steroid Biochem Mol Biol* 44, 469–480. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(93\)90252-R](https://doi.org/10.1016/0960-0760(93)90252-R)
- Panayiotopoulos, C.P., 2010. *A clinical guide to epileptic syndromes and their treatment.* Springer-Verlag.
- Pennell, P.B., 2009. Hormonal Aspects of Epilepsy. *Neurol Clin*. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2009.08.005>
- Penning, T.M., Jin, Y., Steckelbroeck, S., Lanišnik Rižner, T., Lewis, M., 2004. Structure–function of human 3α -hydroxysteroid dehydrogenases: genes and proteins. *Mol Cell Endocrinol* 215, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.11.006>
- Pimienta, H.J., 2004. *la corteza cerebral más allá de la corteza* Title: *The Cerebral Cortex beyond the Cortex.*
- Pirttimaki, T., Parri, H.R., Crunelli, V., 2013. Astrocytic GABA transporter GAT-1 dysfunction in experimental absence seizures. *J Physiol* 591, 823–833. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.242016>

- Platt, F.M., Wassif, C., Colaco, A., Dardis, A., Lloyd-Evans, E., Bembi, B., Porter, F.D., 2014. Disorders of Cholesterol Metabolism and Their Unanticipated Convergent Mechanisms of Disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 15, 173–194. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-091212-153412>
- Popova, E., 2014. Ionotropic GABA Receptors and Distal Retinal ON and OFF Responses. *Scientifica* (Cairo) 2014, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2014/149187>
- Qureshi, I.A., Mehler, M.F., 2014. Sex, epilepsy, and epigenetics. *Neurobiol Dis* 72, 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.06.019>
- Rame Andrade, 2022. Efecto de la progesterona en la epilepsia de tipo crisis de ausencia en la rata Taiep. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla.
- Reddy, D.S., 2016. Catamenial epilepsy: Discovery of an extrasynaptic molecular mechanism for targeted therapy. *Front Cell Neurosci*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00101>
- Reddy, D.S., 2010. Neurosteroids. Endogenous role in the human brain and therapeutic potentials, in: *Progress in Brain Research*. Elsevier B.V., pp. 113–137. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53630-3.00008-7>
- Resendiz, J., 2023. Programa prioritario de epilepsia, a 39 años de su creación: Acciones que dan resultados. *Archivos de Neurociencias* 28. <https://doi.org/10.31157/an.v28i4.465>
- Ricciotti, E., FitzGerald, G.A., 2011. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31, 986–1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Sakamoto, H., Ukena, K., Tsutsui, K., 2001. Effects of Progesterone Synthesized . *The Journal of Neuroscience* 21, 6221–6232. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-16-06221.2001>
- Salín-Pascual, R.J., Fuentes-Romero, N., Arroyo-Guzmán, A., 2019. Metilfenidato como auxiliar en pacientes con ansiedad social que reciben escitalopram. *Revista Mexicana de Neurociencia* 19. <https://doi.org/10.24875/rmn.m18000013>
- Santillán Juan, Sequeria Carlos, 2023. Absence epilepsy in childhood and adolescence, diagnosis, treatment, and prognosis. *Ciencia y Salud*. <https://doi.org/https://doi.org/10.34192/ cienciaysalud.v7i3.611>
- Scaglia, H., 2018. *Bioquímica endocrinológica*.
- Scharfman, H.E., 2007. *The Neurobiology of Epilepsy*.

- Serikawa, T., Mashimo, T., Kuramoto, T., Voigt, B., Ohno, Y., Sasa, M., 2015. Advances on genetic rat models of epilepsy.
- Sherman, S.M., Guillery, R.W., 1998. On the actions that one nerve cell can have on another: Distinguishing “drivers” from “modulators.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95, 7121–7126. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.12.7121>
- 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. *The American Journal of Human Genetics* 92, 767–773. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.03.018>
- 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. *J Neurocytol* 28, 671–684. <https://doi.org/10.1023/A:1007060832459>
- Steriade, M., 2003. The corticothalamic system in sleep. *Frontiers in Bioscience* 8, 1043. <https://doi.org/10.2741/1043>
- Steriade, M., Nunez, A., Amzica, F., 1993. A novel slow (< 1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. *The Journal of Neuroscience* 13, 3252–3265. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-08-03252.1993>
- Stout Steele, M., Bennett, R.A., 2011. Clinical Technique: Dorsal Ovariectomy in Rodents. *J Exot Pet Med* 20, 222–226. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.04.008>
- Strott, C.A., 2002. Sulfonation and Molecular Action. *Endocr Rev* 23, 703–732. <https://doi.org/10.1210/er.2001-0040>
- Tang, F., Hartz, A.M.S., Bauer, B., 2017. Drug-Resistant Epilepsy: Multiple Hypotheses, Few Answers. *Front Neurol* 8. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00301>
- Taubøll, E., Sveberg, L., Svalheim, S., 2015. Interactions between hormones and epilepsy. *Seizure*. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2015.02.012>
- Tolmacheva, E.A., Chepurnov, S.A., Chepurnova, N.E., Kochetkov, Y.A., van Luijtelaaar, G., 2004a. Absence seizures during pregnancy in WAG/Rij rats. *Physiol Behav* 81, 623–627. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.028>

- Tolmacheva, E.A., Chepurinov, S.A., Chepurnova, N.E., Kochetkov, Y.A., van Luijtelaar, G., 2004b. Absence seizures during pregnancy in WAG/Rij rats. *Physiol Behav* 81, 623–627. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.028>
- Tuckey, R.C., Cameron, K.J., 1993. Catalytic properties of cytochrome P-450_{scc} purified from the human placenta: comparison to bovine cytochrome P-450_{scc}. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1163, 185–194. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(93\)90180-Y](https://doi.org/10.1016/0167-4838(93)90180-Y)
- Tunç, A.T., Turgut, M., Aslan, H., Sahin, B., Yurtseven, M.E., Kaplan, S., 2006. Neonatal pinealectomy induces Purkinje cell loss in the cerebellum of the chick: A stereological study. *Brain Res* 1067, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.10.011>
- Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Holmgren, B., Eguibar, JoséR., Gavito, A., Cruz, G., Santos, A., 1990. Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research* 40, 29–35. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(90\)90039-H](https://doi.org/10.1016/0166-4328(90)90039-H)
- 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.
- van Luijtelaar, E.L.J.M., Coenen, A.M.L., 1986. Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci Lett* 70, 393–397. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90586-0](https://doi.org/10.1016/0304-3940(86)90586-0)
- van Luijtelaar, G., Bikbaev, A., 2007. Midfrequency cortico-thalamic oscillations and the sleep cycle: Genetic, time of day and age effects. *Epilepsy Res* 73, 259–265. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2006.11.002>
- van Luijtelaar, 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 Res* 46, 225–239. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(01\)00277-7](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(01)00277-7)
- van Luijtelaar, G., Budziszewska, B., Tetich, M., Lasoń, W., 2003. Finasteride inhibits the progesterone-induced spike-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy. *Pharmacol Biochem Behav* 75, 889–894. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(03\)00162-X](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(03)00162-X)
- van Luijtelaar, G., Onat, F.Y., Gallagher, M.J., 2014a. Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter? *Neurobiol Dis.* <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.014>

- van Luijtelaar, G., Onat, F.Y., Gallagher, M.J., 2014b. Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter? *Neurobiol Dis* 72, 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.014>
- vanluijtelaar2009, n.d.
- Vergens, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Depaulis, A., Rumbach, L., Warter, J.M., 1984. Enhancement of spike and wave discharges by GABA mimetic drugs in rats with spontaneous petit-mallike epilepsy. *Neurosci Lett* 44, 91–94. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(84\)90226-X](https://doi.org/10.1016/0304-3940(84)90226-X)
- Verrotti, A., Prezioso, G., D'Egidio, C., Belcastro, V., 2015. Reproductive Hormones in Epilepsy Therapy: From Old Promises to New Hopes. pp. 201–211. https://doi.org/10.1007/978-3-319-12283-0_11
- Wallace, R.H., Marini, C., Petrou, S., Harkin, L.A., Bowser, D.N., Panchal, R.G., Williams, D.A., Sutherland, G.R., Mulley, J.C., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., 2001. Mutant GABAA receptor $\gamma 2$ -subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat Genet* 28, 49–52. <https://doi.org/10.1038/ng0501-49>
- Wei, J., Yuen, E.Y., Liu, W., Li, X., Zhong, P., Karatsoreos, I.N., McEwen, B.S., Yan, Z., 2014. Estrogen protects against the detrimental effects of repeated stress on glutamatergic transmission and cognition. *Mol Psychiatry* 19, 588–598. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.83>
- Wilson, A., Olsen, R., Porter Lippincott Williams, R., Huguenard, J.R., 1999. Basic Mechanisms of the Epilepsies, *Advances in Neurology*.
- Wolf, P., 2014. History of epilepsy: Nosological concepts and classification. *Epileptic Disorders* 16, 261–269. <https://doi.org/10.1684/epd.2014.0676>
- Woolley, C., McEwen, B., 1994. Estradiol regulates hippocampal dendritic spine density via an N-methyl- D-aspartate receptor-dependent mechanism. *The Journal of Neuroscience* 14, 7680–7687. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-12-07680.1994>
- Yilmaz, C., Karali, K., Fodelianaki, G., Gravanis, A., Chavakis, T., Charalampopoulos, I., Alexaki, V.I., 2019. Neurosteroids as regulators of neuroinflammation. *Front Neuroendocrinol* 55, 100788. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100788>
- Zhu, Y., Bond, J., Thomas, P., 2003. Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progesterin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 2237–2242. <https://doi.org/10.1073/pnas.0436133100>