



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

LABORATORIO DE NEUROFISIOLOGÍA DE LA CONDUCTA Y CONTROL  
MOTOR

**“Efecto del acetato de medroxiprogesterona en las crisis de  
ausencia en la rata *taiep*”**

Tesis para obtener el grado de:  
**Maestra en Ciencias Fisiológicas**

Presenta:

LNC. Karla Eliacim Vázquez Olaya

Matricula: 223470115

DIRECTORA DE TESIS: DRA. MA. DEL CARMEN CORTÉS SÁNCHEZ

CO-DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE RAMÓN EGUIBAR CUENCA

Abril 2025

## **Agradecimientos**

A lo largo de este camino, muchas personas e instituciones han sido clave para la realización de este trabajo, y es un honor expresar mi gratitud hacia todas ellas.

En primer lugar, agradezco al Programa Nacional Estratégico de Ciencias, Tecnologías e Innovación en Salud (PRONACES-CONACYT 194171) y a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la BUAP (VIEP-BUAP 2024) por el apoyo brindado para el desarrollo de este proyecto. Asimismo, al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) con No. 1268024, por el respaldo que ha hecho posible la culminación de este trabajo.

A la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez y el Dr. José Ramón Eguibar Cuenca, quienes dirigieron este proyecto y a quienes agradezco infinitamente el permitirme ser parte de su equipo de trabajo.

Extiendo mi más sincero agradecimiento al Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y del Control Motor, donde encontré no solo un espacio de aprendizaje y crecimiento, sino también un entorno de colaboración invaluable. En especial, mi reconocimiento a Nicolás Luna, cuya orientación y apoyo fueron fundamentales en este proceso.

Finalmente, quiero agradecer a quienes han sido mi refugio en los momentos de mayor desafío, mis amigos Hallel Aquino, Elizabeth Rojas y Diego Martínez. Su compañía, apoyo y alegría han hecho que no solo el estrés, sino la vida misma, sean más ligeros y llevaderos.

A todos ustedes, gracias.

## Resumen

---

Las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia generalizada que sus características electroencefalográficas son un patrón de descargas espiga-onda (DEOs). Esta epilepsia es característica de la infancia y se distingue porque, en dos tercios de los casos, remite durante la pubertad. La rata *taiep* es un mutante de tubulinas, y su nombre es el acrónimo de los signos motores progresivos que presenta: temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia del tipo crisis de ausencia y parálisis en el tren posterior.

Por otra parte, las hormonas sexuales, como la progesterona, se ha mostrado modulan la excitabilidad neuronal en distintas estructuras cerebrales. Las DEOs tienen una mayor severidad en los machos *taiep* que en las hembras *taiep*. Adicionalmente, las DEOs en los machos son dependientes de los andrógenos testiculares, ya que la orquiectomía neonatal abate las DEOs, pero la gonadectomía adulta las incrementa.

El objetivo de este estudio fue el de evaluar el efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona (AMP) en las DEOs en ratas *taiep* hembras ovariectomizadas y machos íntegros. Se utilizaron ratas *taiep* macho de 6 meses de edad, a las cuales se les realizó una cirugía estereotáxica para implantar electrodos en la corteza cerebral, permitiendo el registro de EEG. En el caso de las hembras *taiep*, se siguió el mismo procedimiento, con la diferencia de que se realizó una gonadectomía previa al implante de los electrodos.

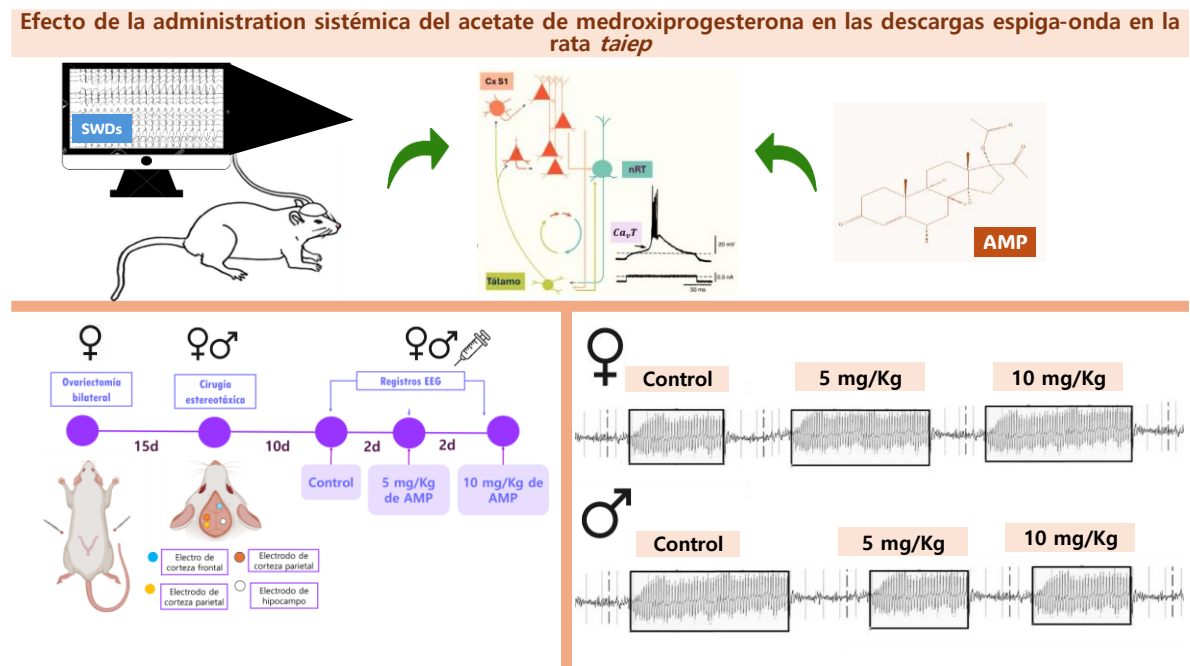
Se llevaron a cabo tres registros EEG de 24 horas de duración: el primero en condiciones control y los otros dos tras la administración intramuscular de AMP a dosis de 5 y 10 mg/Kg, con un intervalo de 72 horas entre cada registro.

Los resultados mostraron que la administración del AMP no disminuyó significativamente la frecuencia de las DEOS en las hembras *taiep*, pero al evaluar en periodos de 2 horas si se encontró un aumento significativo en la duración. En el caso de los machos *taiep* el efecto del AMP en la evaluación en periodos de 2 horas,

la duración de las DEOS disminuyó significativamente, no se encontró diferencia significativa en el caso de la frecuencia de las DEOs.

En conclusión, el acetato de medroxiprogesterona tiene un efecto sobre el circuito tálamo-cortical que modula las descargas espiga-onda, el cual se presenta con un dimorfismo sexual.

## Resumen Gráfico



## Índice

---

<b>1. Introducción.....</b>	<b>9</b>
Aspectos históricos en el estudio de la epilepsia.....	9
Definición de la epilepsia.....	10
Clasificación de los tipos de epilepsia.....	11
Crisis de ausencia.....	12
Tipos de crisis de ausencia.....	12
Manifestaciones clínicas de las crisis de ausencia.....	13
Fisiopatología de las crisis de ausencia.....	15
Circuito tálamo-cortical en las crisis de ausencia.....	17
Etiología de las crisis de ausencia.....	17
Tratamiento en las crisis de ausencia.....	20
Dimorfismo sexual en las crisis generalizadas.....	21
Modulación hormonal en las crisis de ausencia.....	23
El ritmo circadiano en las crisis de ausencia.....	25
Modelos animales que expresan las descargas espigas-onda.....	25
Características generales de la rata <i>taiep</i> .....	28
Características electrofisiológicas de la rata <i>taiep</i> .....	29
<b>Actividad electroencefalográfica de la rata <i>taiep</i>.....</b>	<b>29</b>
Características hormonales de la rata <i>taiep</i> .....	30
Dimorfismo sexual en las descargas espiga-onda en modelos genéticos de las crisis de ausencia humanas.....	30
Modulación hormonal en las descargas espiga-onda en modelos animales.....	31
El acetato de medroxiprogesterona como neuroesteroide.....	34
Estructura química del acetato de medroxiprogesterona.....	36
Farmacocinética del acetato de medroxiprogesterona.....	36
Mecanismo de acción del acetato de medroxiprogesterona.....	38
<b>2. Planteamiento del problema.....</b>	<b>39</b>
<b>3. Justificación.....</b>	<b>41</b>
<b>4. Pregunta de investigación.....</b>	<b>42</b>
4.1 Hipótesis.....	42
<b>5. Objetivos.....</b>	<b>42</b>
5.1. Objetivo general.....	42

5.2. Objetivos específicos.....	42
<b>6. Metodología.....</b>	<b>43</b>
<b>7. Bioética.....</b>	<b>48</b>
<b>8. Resultados. ....</b>	<b>49</b>
<b>9. Discusión.....</b>	<b>62</b>
10. Conclusiones.....	69
<b>10. Referencias. ....</b>	<b>70</b>

## Lista de abreviaturas

<b>Ap</b>	Antero-posterior
<b>AMP</b>	Acetato de medroxiprogesterona
<b>BMAL</b>	Brain and Muscle ARNT-Like 1
<b>CCGs</b>	Clock-controlled genes
<b>CLOCK</b>	Circadian Locomotor Output Cycles Kaput
<b>Cry</b>	Cryptochrome
<b>Cx</b>	Corteza cerebral
<b>DEO</b>	Descarga espiga-onda
<b>DV</b>	Dorso-ventral
<b>E-box</b>	Región promotora E
<b>EEG</b>	Electroencefalograma
<b>EMG</b>	Electromiograma
<b>EOG</b>	Electrooculograma
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>GABAA</b>	Receptor GABA tipo A
<b>GABAB</b>	Receptor GABA tipo B
<b>GAERS</b>	De las siglas en ingles Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg
<b>Hp</b>	Hipocampo
<b>i.m.</b>	intramuscular
<b>ILAE</b>	De las siglas en inglés International League Against Epilepsy

<b>ML</b>	Medio-lateral
<b>Per</b>	Period
<b>Pg</b>	Progesterona
<b>PTZ</b>	Pentilenetetrazol
<b>s.c</b>	Subcutánea
<b>WAG/Rij</b>	De las siglas en inglés Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats

## 1. Introducción.

La palabra epilepsia tiene raíz griega con los verbos *epikalbámeim* y *épiare*, que significan apoderarse y agarrar, respectivamente (Wenger, 2008). Por lo que se ha homologado a las crisis epilépticas como la posesión de seres sobrenaturales.

### Aspectos históricos en el estudio de la epilepsia.

En principio la epilepsia fue relacionada como un castigo divino o una posesión, la cual debía ser tratada espiritualmente según se ha mostrado en registros de culturas como la babilónica, la egipcia y la griega (citado en Panteliadis et al., 2017). Fue el médico Hipócrates (460-390 a.C.) quien separa la concepción mística-religiosa hacia una explicación científica, al abordarla como una enfermedad que se originaba en el cerebro y que podría tratarse con un procedimiento neuroquirúrgico (citado en Grensemann, 1968).

En el caso de las crisis de ausencia, fue el neurólogo suizo Samuel August Tissot (1728-1797) a través de su libro titulado *Traité de l'Épilepsie* (1770) quien describe y clasifica detalladamente dos tipos de convulsiones “*grand mal*” y “*petit mal*”, que enfatiza que las principales diferencias entre ambas es la pérdida de conciencia y la falta de movimiento que se presenta en el pequeño mal o “*petit mal*” (citado en Brigo et al., 2018).

El término “*ausencia epiléptica*” fue introducido por Calmeli (1798-1895) en 1824 al describir los síntomas de este tipo de epilepsia como lo es la caída de objetos durante la crisis, la falta de impresión ante estímulos externos, la cual toma una duración variable pero siempre en el rango de unos cuantos segundos (citado en Ey, 1953).

Fue el registro electroencefalográfico (EEG) el que permitió correlacionar el periodo ictal de las crisis de ausencia con las descargas espiga-onda generalizadas (DEOs) en el EEG, formalizando así el estudio de las crisis de ausencia típicas (Penry et al., 1975).

Fue Hans Berger (1873-1941) quien realizó el primer registro de un EEG, y registró una ausencia atípica en una mujer de 18 años que sufría de una convulsión generalizada; este trazo en el EEG lo llamaría descargas “egg and dart”, o “*spike and dome*” o (“huevo y dardo” o “pico y cúpula”, respectivamente) (‘Atlas of Electroencephalography’, 1941; Brigo *et al.*, 2018).

### Definición de la epilepsia.

En 2005, la Liga Internacional Contra la Epilepsia (International League Against Epilepsy, ILAE) definió a las “crisis” y la “epilepsia” de manera práctica y funcional para homogenizarlas en la práctica clínica:

- Crisis epiléptica: es la aparición transitoria de signos y/o síntomas debido a una actividad neuronal anormal, excesiva o sincrónica en el cerebro.
- Epilepsia: es una enfermedad cerebral caracterizada por una predisposición duradera a generar crisis epilépticas; así como, las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales de esta condición. Para diagnosticarla requiere la aparición de al menos una crisis epiléptica (Perucca, 2014).

Otras definiciones que han sido estandarizadas en el ámbito clínico se muestran en la figura 1 (Kammerman, 2001; Stafstrom and Carmant, 2015).

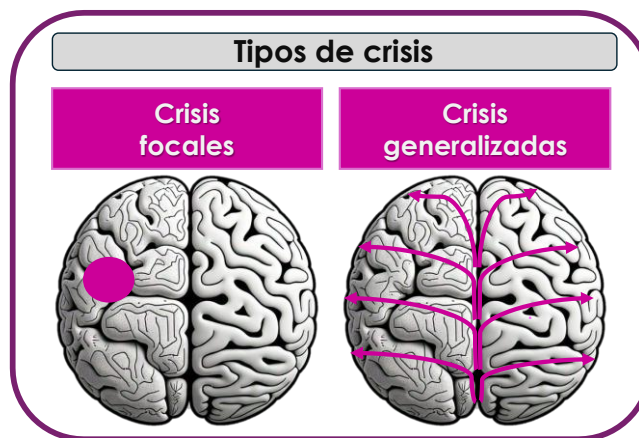


**Figura 1. Definición de epilepsia y otros conceptos asociados a esta patología cerebral.** El cuadro presenta los conceptos que distinguen los diferentes tipos de crisis convulsivas y el término "crisis epilépticas". La epilepsia es una enfermedad

caracterizada por la aparición de crisis, aunque no todas ellas son de tipo convulsivo.

Las crisis epilépticas se subdividen en dos categorías (Figura 2):

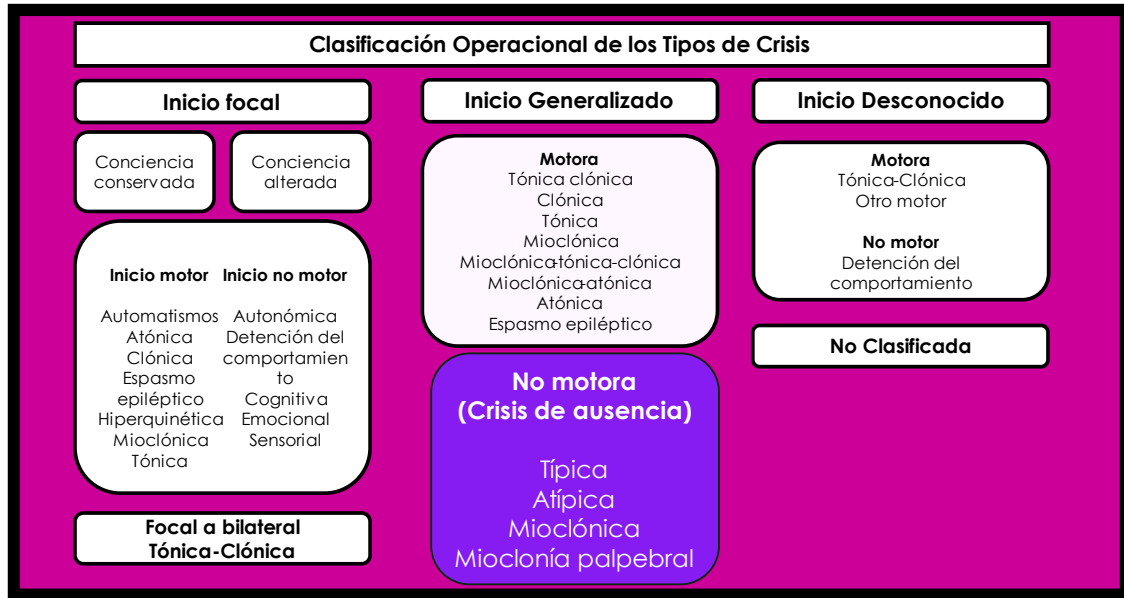
- Generalizadas: la crisis se manifiesta en redes neuronales distribuidas bilateralmente.
- Focales: la crisis se ubican en un solo hemisferio cerebral (Stafstrom y Carmant, 2015).



**Figura 2. Clasificación de las crisis según los hemisferios cerebrales que involucra** (Modificado de Stafstrom y Carmant, 2015). La imagen muestra los distintos tipos de crisis. La crisis focal afecta solo un hemisferio cerebral, mientras que la crisis generalizada involucra ambos hemisferios.

#### Clasificación de los tipos de epilepsia.

Actualmente, la ILAE clasifica a las crisis según su manifestación inicial, así se tienen crisis generalizadas cuando la actividad epiléptica se propaga en ambos hemisferios. Las crisis generalizadas se subclasifican como crisis motoras y no motoras, en este último grupo se localizan las crisis de ausencia (Figura 3.) (Fisher *et al.*, 2017; Scheffer *et al.*, 2017).



**Figura 3. Clasificación operacional de los tipos de crisis según los criterios de la ILAE 2017 (ILAE, 2017).** La clasificación de los tipos de crisis se divide en las de inicio focal, las de inicio generalizado y las de inicio desconocido. Las crisis de ausencia se encuentran en las de inicio generalizado, en el recuadro morado.

### Crisis de ausencia.

Las crisis de ausencia son un tipo de crisis generalizadas, que se caracterizan por la pérdida transitoria de la conciencia y la presencia de una descarga sincrónica y generalizada de descarga espiga-onda a una frecuencia de 2.4 a 4 Hz en el EEG (Crunelli y Leresche, 2002).

### Tipos de crisis de ausencia.

Dentro de las crisis generalizadas encontramos diferentes tipos que son (Figura 4):

- Crisis generalizadas idiopáticas: son un grupo de epilepsias que son dependientes de la edad, en este grupo se encuentran las crisis generalizadas genéticas que se caracterizan por rasgos electroclínicos y de herencia poligénica (Guerrero Ruiz, 2023).
- Crisis de ausencia infantil: la edad de inicio es entre los 2 hasta los 13 años.

- Crisis de ausencia juvenil: que se presentan desde los 8 hasta los 20 años, pueden presentar crisis febriles y suelen presentar más crisis del tipo tónico-clónicas.
- Crisis mioclónica juvenil: se presenta en adolescentes.
- Crisis tónico-clónicas: este tipo de crisis suelen aparecer con mayor frecuencia en la crisis de ausencia juvenil (Doose, 1992; Martínez-Ferrández *et al.*, 2019; Asadi-Pooya and Farazdaghi, 2022).



**Figura 3. Tipos de crisis generalizadas** (Guerrero Ruiz, 2023). Las crisis generalizadas o crisis generalizadas idiopáticas se subdividen según la etapa en la que se presenten, como son las crisis de ausencia infantil, las crisis de ausencia juvenil, la crisis mioclónica juvenil y las crisis tónico-clónicas.

#### Manifestaciones clínicas de las crisis de ausencia.

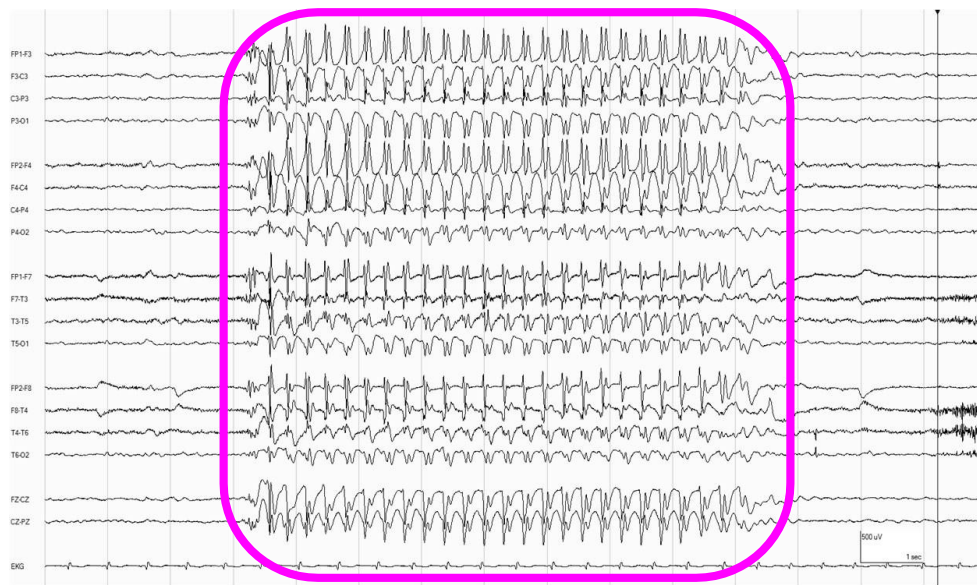
Perdida de la conciencia: la ILAE en 2017 en su guía operacional define a la conciencia como el conocimiento del yo y del entorno, en este sentido se refiere a la percepción o el conocimiento de los eventos que ocurren durante una crisis epiléptica. En el caso de las crisis de inicio generalizado como son la crisis de ausencia se presentan con la conciencia alterada o sin pérdida total de la misma; aunque se reconoce que la conciencia y la capacidad de respuesta pueden estar parcialmente bloqueadas (Scheffer *et al.*, 2017).

Crisis con arresto motor: lo más frecuente es la mirada fija en el espacio o perdida, si el paciente está hablando, el lenguaje se lentifica o se interrumpe; si está caminando se para o deambula torpemente por ejemplo si el paciente come, se detiene su mano en el camino hacia la boca y no responde cuando se le habla (Martínez-Ferrández *et al.*, 2019).

Las descargas espiga-onda (DEOs) en el EEG: son descargas generalizadas con una forma de espiga-onda a con una frecuencia principal de 3 Hz, sincrónicas y simétricas que se presentan en el EEG, con un rango de frecuencias principal de 2.5 hasta de 4 Hz, con una declinación gradual en la frecuencia durante el desarrollo de la crisis. La duración media va desde 4 a 20 segundos siendo 10 segundos la duración promedio (Crunelli and Leresche, 2002; Sanabria Sanchinel *et al.*, 2017).

**Tabla 1. Características de las descargas espiga-onda en el electroencefalograma en diferentes tipos de crisis.**

Crisis de ausencia	Infantil	Juvenil	Idiopática
Patrón de las DEOs	Regular	Irregular Incluye poli-espigas-onda	Variable
Frecuencia	3 Hz	3 a 5.5 Hz	< 2.5 Hz



Descargas espiga-onda (DEOs)

Otras manifestaciones que muestran los pacientes: en algunos niños pueden presentarse automatismos, como movimientos oculares, parpadeos, de labios o de las manos mientras se presenta la crisis (Panayiotopoulos, 1999).

### Fisiopatología de las crisis de ausencia.

#### Circuito tálamo-cortical.

El circuito tálamo-cortical se considera una estación de retransmisión para enviar señales sensoriales y motoras hacia áreas específicas de la corteza cerebral (véase figura 4, modificado de Augustine et al., 2010).

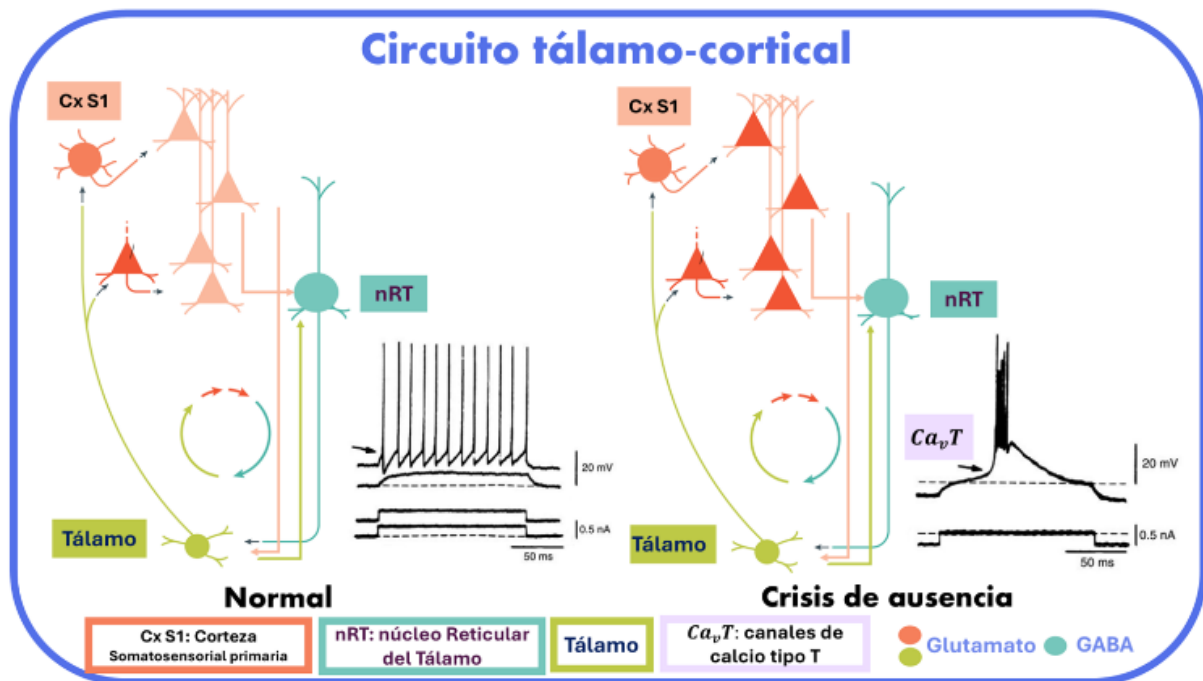
El tálamo es un conjunto de núcleos que forman el componente principal del diencefalo dorsal, aunque sus subdivisiones y funciones son varias; una de sus funciones principales es la de interactuar con circuitos neuronales en la corteza cerebral a través de procesos recíprocos e interconexiones organizadas somatotópicamente (Basso, Uhlrich and Bickford, 2005).

El tálamo se divide en sectores, estos sectores se dividen por una banda de mielina en forma de “Y” llamada lámina medular interna, formando así los siguientes núcleos:

- Núcleo ventral del tálamo (NVT): son núcleos en el nivel ventral del tálamo que reciben información de los ganglios basales y del cerebelo, y proyectan hacia la corteza motora.
- Núcleo lateral del tálamo (NLT): son núcleos en el nivel ventral del tálamo que reciben información de los ganglios basales y el cerebelo, los cuales proyectan a la corteza motora. De este núcleo donde surgen las señales motoras y sensoriales hacia la corteza cerebral.
- Núcleo posterior del tálamo (NPT): envía proyecciones excitatorias a la corteza cerebral, por proyecciones piramidales glutamatérgicas en la capa IV de la corteza cerebral.
- Núcleo reticular del tálamo (NRT): este núcleo forma una vaina delgada de interneuronas inhibitorias GABAérgicas que rodean a los núcleos de relevo talámicos (Halassa and Sherman, 2019; Biesbroek *et al.*, 2024).

Las neuronas de relevo glutamatergicas dentro del núcleo talámico ventral posterior (NTVP) envían proyecciones tálamo-corticales (TC) excitatorias a las células piramidales glutamatergicas de la capa IV de la corteza. Las células piramidales a su vez envían proyecciones cortico-talámicas (CT) de regreso hacia las neuronas de relevo en el tálamo desde las capas corticales V/VI, que son las vías de salida de la corteza (Leitch, 2022a) .

El núcleo reticular del tálamo recibe, modera y retransmite la información sensorial hacia y desde la corteza cerebral, cuando hay proyecciones cortico-talámicas que activan al tálamo; siendo las neuronas del núcleo reticular del tálamo quiénes limitara las proyecciones tálamo-corticales por retroalimentación negativa (Wang y Wang, 2017).



**Figura 4.El Circuito tálamo cortical.** En el Circuito tálamo-cortical, es el núcleo reticular del tálamo (nRT) quien opera en un ritmo tónico, sin embargo, en las crisis de ausencia este patrón cambia un ritmo en ráfaga lo que lleva a la aparición de las descargas espiga-onda en el registro electroencefalográfico. NRT: núcleo reticular del tálamo, NVP: núcleo ventral posterior. (Leitch, 2022b).

### Circuito tálamo-cortical en las crisis de ausencia.

El circuito tálamo-cortical es una red excitatoria recurrente siendo una inhibición GABAérgica la que impide la hiperexcitabilidad y la actividad convulsiva (Ochoa-de la Paz *et al.*, 2021).

Las crisis de ausencia se originan de oscilaciones patológicas hipersincrónicas dentro de la red tálamo-cortical o cortico-tálamo, lo que desequilibra la inhibición-excitación de los circuitos locales. Sin embargo los factores o eventos precisos no han sido dilucidados a la fecha (Sherman and Guillery, 2011; Leitch, 2022b) (Ver Figura 4).

### Etiología de las crisis de ausencia.

La etiología de las crisis de ausencia se ha estudiado que se debe a diferentes aspectos genéticos, estructurales y metabólicos, los cuales se detallan a continuación:

**Genéticas:** se han identificado diversos tipos de anomalías genéticas entre los factores hereditarios que explican la epilepsia del tipo crisis de ausencia (véase Tabla 2). Sin embargo, las anomalías genéticas subyacentes siguen siendo poco claras en la mayoría de los casos clínicos (Atlı *et al.*, 2023).

#### **Estructurales:**

Las principales estructuras que se relacionan directamente a las crisis de ausencia son el tálamo y la corteza cerebral (Futatsugi y Riviello Jr. 1998). Pero, se ha reportado la participación de otras estructuras cerebrales en pacientes con crisis de ausencia, las cuales provienen de estudios realizados con resonancia magnética estructural y funcional, mostrando lo siguiente:

**Ganglios basales:** se ha reportado una disminución en la transmisión sináptica excitatoria cortical hacia el estriado, las cuales se relacionan con la reducción de la actividad de las interneuronas de rápida descarga durante las descargas espigonda (Miyamoto *et al.*, 2019).

**Tabla 2. Genes que se han reportado presentan mutación en pacientes que presentan crisis de ausencia.**

<b>Gen</b>	<b>Función del gen</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Población estudiada</b>	<b>Referencia</b>
<b>CACNA1H</b>	Expresa canales de calcio tipo T	Aumento en la excitabilidad neuronal.	Crisis de ausencia infantil	(Chen, Parker and Wang, 2014).
<b>GABRA1, GABRG2, GABRG3, GABRA5</b>	Expresa la subunidad $\gamma 2$ del receptor ácido gamma aminobutírico tipo A ( $GABA_A$ ).	Reduce la inhibición sináptica.	Crisis de ausencias infantil, juvenil y mioclónica	(Sander <i>et al.</i> , 2009).
<b>SCN1A, SCN2A</b>	Codifica para canales de sodio-dependientes de voltaje.	Aumenta la excitabilidad neuronal.	Crisis generalizadas	(Miller y Sotero de Menezes, 1993).
<b>HCN2 y HCN1</b>	Codifica canales regulados por nucleótidos cíclicos activados por una hiperpolarización.	Desregulación en la sincronización neuronal.	Crisis de ausencia infantil	(Crunelli <i>et al.</i> , 2023).
<b>SLC2A1</b>	Codifica para el transportador de glucosa (GLUT1).	Reduce el transporte de glucosa.	Crisis generalizadas idiopáticas	(Arsov <i>et al.</i> , 2012).
<b>KCNQ2 y KCNQ3</b>	Codifica para los canales de potasio dependientes de voltaje.	Aumenta la excitabilidad neuronal.	Crisis generalizadas idiopáticas	(Steinlein <i>et al.</i> , 1999).
<b>STXBP1</b>	Codifica proteínas implicadas en la liberación de neurotransmisores (acople y fusión vesicular).	Alteración en la transmisión sináptica.	Crisis de ausencia mioclónica	(Dong <i>et al.</i> , 2022).

**CACNA1H** (Codifica la subunidad alfa-1H de los canales de calcio tipo T), **GABRA1** (Receptor GABA tipo A, subunidad alfa-1), **GABRG2** (Receptor GABA tipo A, subunidad gamma-2), **GABRG3** (Receptor GABA tipo A, subunidad gamma-3), **GABRA5** (Receptor GABA tipo A, subunidad alfa-5), **HCN2** (hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels), **SLC2A1** (Transportador de glucosa tipo 1), **KCNQ** (Canales de potasio dependientes de voltaje), **STXBP1** (Syntaxin-binding protein 1).

Cerebelo: se ha reportado una disminución en el número de células de Purkinje inhibitorias, vinculada a la aparición de descargas epileptiformes en el EEG, y se ha mostrado que durante las descargas espiga-onda hay activación del cerebelo. Por otra parte, en estudios clínicos se ha demostrado que las lesiones cerebelosas pueden inducir actividad epileptiforme cortical (Beckinghausen *et al.*, 2023).

### **Metabólicas:**

El núcleo reticular del tálamo (NRT) es una estructura que rodea el tálamo y contiene neuronas GABAérgicas, cuya función es la de inhibir a las neuronas tálamo-corticales, se ha implicado que la deficiencia de la enzima fosfolipasa (PlcB1) la que provoca un desequilibrio en el balance energético, disminuyendo el aporte de adenosín trifosfato (ATP) provocando un déficit en la transmisión sináptica lo que conduce a su vez a la aparición de las descargas espigas-onda (Chang *et al.*, 2022).

El síndrome de deficiencia de GLUT1 se ha relacionado con la aparición de las descargas espiga-onda, debido a la alteración de la transmisión del glutamato en la corteza cerebral a causa de la alteración del transportador para la glucosa tipo 1 (GLUT1) en los astrocitos, lo que sugiere un desequilibrio en la captación y el metabolismo del glutamato (Touret *et al.*, 2007).

### **Receptores y neurotransmisores.**

Los receptores  $GABA_B$ : han mostrado que los fármacos agonistas de este receptor exacerbaban la frecuencia de las descargas espigas-ondas (Vienne *et al.*, 2010). Los efectos de los receptores  $GABA_B$ : incluyen la inhibición de la liberación de neurotransmisores y la modulación de la excitabilidad neuronal, el mecanismo de acción es a través de la inhibición de los canales de calcio tipo T (Terunuma, 2018).

Los receptores  $GABA_A$ : han mostrado que la bicuculina, un antagonista de este receptor, induce inicialmente picos de convulsiones originados en la corteza que posteriormente evolucionan a descargas espiga-onda altamente sincronizadas en el circuito tálamo-cortical (Snead *et al.*, 2000).

Los canales de calcio tipo T de bajo voltaje: la disfunción de este tipo de canales se ha relacionado con la activación neuronal en ráfagas rítmicas tanto en neuronas del núcleo reticular talámico, como en las neuronas tálamo-corticales durante las descargas espiga-onda (Cheong y Shin, 2013). Los canales tipo T de bajo voltaje se expresan abundantemente en el núcleo reticular del tálamo como son sus subtipos Cav 3.2 y Cav 3.3, y en el tálamo expresándose exclusivamente en las neuronas tálamo-corticales con canales de calcio Cav 3.1, los cuales controlan los patrones de excitabilidad celular y las oscilaciones tálamo-corticales durante los estados de vigilia y de sueño (Chen et al., 2014; Timic Stamenic y Todorovic, 2022).

Los neurotransmisores como el ácido gamma-aminobutírico (GABA) y glutamato: se han reportado que las crisis de ausencia hay un desequilibrio entre la excitación-inhibición por la pérdida de la activación de las interneuronas inhibitorias de la red cortico-talámica lo que conduce a un cambio en los niveles del neurotransmisor GABA pero no así del neurotransmisor glutamato, lo que se sugiere es que es la desactivación de estas interneuronas las que pueden provocar una corriente excitatoria descontrolada y llevar a las descargas espiga-onda (Adotevi *et al.*, 2021).

#### Tratamiento en las crisis de ausencia.

Dentro de los primeros tratamientos exitosos empleados para las crisis de ausencia fue el pentilentetrazol, este fármaco bloquea los receptores para el ácido gamma-aminobutírico (GABA) aumentando la excitabilidad neuronal, impidiendo la formación de las descargas espiga-onda (Rho y White, 2018).

Actualmente se considera a la etosuximida como un fármaco de primera elección (Kessler y McGinnis, 2019). Siendo la etosuximida y el ácido valproico son los fármacos con mayor efecto en el tratamiento de las crisis de ausencia en la infancia en comparación con la lamotrigina, se debe enfocar que la etosuximida la que tiene mayores efectos secundarios a largo plazo (Glauser *et al.*, 2010).

El ácido valproico controla las crisis de ausencia en un 70% los espamos en las crisis de ausencia del tipo mioclónicas, sin embargo, este fármaco puede estar contraindicado en algunas mujeres, principalmente aquellas que cursan

anormalidad hormonal como lo es en el Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP). Por otra parte, la lamotrigina puede controlar las crisis de ausencias en un 50-60%, pero puede empeorar los espasmos mioclónicos y produce las erupciones cutáneas (Panayiotopoulos, 2001). En la Tabla 3 se muestran algunos fármacos que se ha prescrito para el tratamiento de las crisis de ausencia generalizadas.

<b>Tabla 3. Fármacos en el tratamiento de las crisis de ausencia.</b>				
<b>Nombre del fármaco</b>	<b>Mecanismo de acción</b>	<b>Vía de administración</b>	<b>Desventajas</b>	<b>Referencia</b>
<b>Etosuximida</b>	Inhíbe los canales de calcio tipo T en las neuronas talámicas.	Oral	No efectivo para otros tipos de crisis epilépticas.	(Brigo, Igwe and Lattanzi, 2019).
<b>Ácido valproico</b>	Aumenta los niveles del ácido gamma-aminobutírico (GABA).	Oral e intravenosa	Daño hepático	(Gregorčič <i>et al.</i> , 2022).
<b>Lamotrigina</b>	Inhíbe la liberación de glutamato y bloquea los canales de sodio dependientes de voltaje.	Oral	Erupciones cutáneas graves	(Kessler y McGinnis, 2019).
<b>Levetiracetam</b>	Actúa sobre la proteína de vesícula sináptica (SV2A) presente en las vesículas sinápticas.	Oral e intravenosa	Depresión y psicosis	(Nolan <i>et al.</i> , 2019).

### Dimorfismo sexual en las crisis generalizadas.

Las diferencias sexuales son evidentes en todo el desarrollo del cerebro, incluyendo el volumen cerebral, la diferenciación neuronal y los patrones de actividad sináptica (Christian *et al.*, 2020a; Reddy, Thompson and Calderara, 2021).

La incidencia de las crisis epilépticas generalizadas son más comunes en mujeres, en particular la epilepsia mioclónica de ausencia (Kleveland y Engelsen, 1998; Oguni et al., 2001). Los hombres con epilepsia del lóbulo temporal medial son más frecuentes a padecer crisis de ausencia generalizadas secundarias (Sundqvist, 1990; Hauser, Annegers and Kurland, 1993).

La epilepsia de ausencia infantil, es más frecuente entre 2 y 5 veces en mujeres con respecto a la incidencia en los hombres, siendo la ausencia juvenil es tres veces más común entre las mujeres, y la epilepsia mioclónica juvenil es hasta un 1.5 veces más común en las mujeres (Christensen *et al.*, 2005).

La razón detrás de estas diferencias en el número de casos no está esclarecida, pero es probable que se deba a las diferencias de las hormonas sexuales las cuales desempeñen un papel crucial en el desarrollo de las crisis generalizadas idiopáticas. De tal forma que en la menopausia una etapa donde los ovarios entran en un estado quiescente se presenta una disminución de la frecuencia de las crisis de ausencia, lo que se correlaciona con la disminución de los niveles plasmáticos de estrógenos y progesterona (Christensen *et al.*, 2005; Carlson *et al.*, 2014).

En las crisis de ausencia la red cortico-talámica está implicada en su fisiopatología, y en estudios recientes sugieren que esta red difiere entre hombres y las mujeres, y es además modificada por genes presentes del cromosoma X, así como por el rol de la testosterona y los estrógenos (Lentini *et al.*, 2013).

En las crisis de ausencia generalizadas juveniles, es posible que estén reguladas positivamente por esteroides sexuales en la pubertad, y siendo los estrógeno más relevantes que los andrógenos, ya que se ha mostrado que el estrógeno retrasa la poda neuronal dendrítica; mientras que, la testosterona la promueve (Savic, 2014).

En abril del 2003, 2170 personas fueron clasificadas con un diagnóstico de epilepsia en la base de datos *EpiBase*, del Hospital Universitario de Aarhus. La relación por sexo se muestra en la Tabla 4. En general la epilepsia generalizada es más frecuente en las mujeres que en los hombres (Christensen *et al.*, 2005; Van Luijtelaar, Onat and Gallagher, 2014) (ver Tabla 4).

<b>Tabla 4. Incidencia a presentar crisis de ausencia generalizadas dependientes del sexo según <i>EpiBase</i> 2003.</b>				
<b>Tipo de crisis generalizada</b>	<b>Mujeres (%)</b>	<b>Hombres (%)</b>	<b>Total</b>	<b>Significancia</b>
<b>Crisis de ausencia infantil</b>	12 (63)	7 (37)	19	$p = 0.036$
<b>Crisis de ausencia juvenil</b>	52 (76)	16 (24)	68	$p < 0.001$
<b>Crisis de ausencia mioclónica</b>	105 (61)	67 (39)	172	$p = 0.005$
<b>Crisis de ausencia secundarias</b>	16 (52)	15 (48)	31	$p = 1.00$
<b>Crisis de ausencia idiopáticas</b>	74 (50)	73 (50)	147	$p = 1.00$
<b>Total</b>	259 (59)	178 (41)	437	$p < 0.001$

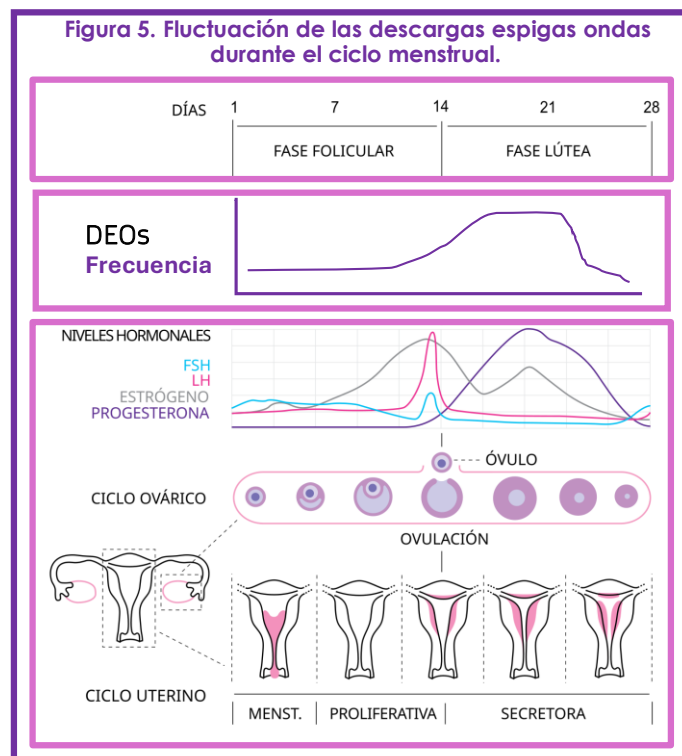
#### Modulación hormonal en las crisis de ausencia

Las hormonas gonadales ejercen un efecto claro en la excitabilidad neuronal (Reddy, Thompson and Calderara, 2021), ya que por ejemplo, el estradiol ha demostrado aumentar la excitabilidad neuronal y disminuye el umbral para desencadenar convulsiones. Mientras que, la progesterona tiene un efecto anticonvulsivo al aumentar el umbral para las convulsiones. La testosterona y otros andrógenos se ha mostrado que tienen ambos efectos, los cuales son dependientes de la dosis y del tipo de epilepsia (Christian *et al.*, 2020a).

En las crisis convulsivas, la frecuencia de las convulsiones en las mujeres puede incrementarse respecto de las distintas fases del ciclo menstrual, la cual es denominada epilepsia catamenial, con un aumento de las crisis epilépticas durante la menstruación y durante la segunda parte de la fase lútea, lo que se correlaciona

con niveles bajos o con una tendencia a disminuir de progesterona, respectivamente (Herzog, 1995a).

En las crisis de ausencia, se ha mostrado que las hormonas gonadales o esteroides modulan la frecuencia de las crisis durante el ciclo menstrual, la pubertad, el embarazo y la menopausia (Morrell, 1992; Luef, 2009). Por ejemplo, las crisis de ausencia aumentaron la frecuencia de las descargas espiga-onda hacia la mitad del ciclo menstrual con una mejoría durante la menstruación y durante la primera mitad del ciclo menstrual. Por otra parte la administración de progesterona exógena exacerbaron las crisis de ausencia (Grünwald, Aliberti and Panayiotopoulos, 1992). En la Figura 5, se muestra una propuesta gráfica de la fluctuación de las descargas espiga-onda a lo largo del ciclo menstrual.



**Figura 5. Propuesta de la fluctuación de las descargas espiga-onda durante el ciclo menstrual** (Tomado y modificado de “Ciclo sexual femenino,” 2024; Herzog, 2008). Las hormonas sexuales, principalmente la progesterona, modulan la excitabilidad neuronal, lo que puede aumentar o disminuir la frecuencia de las descargas espiga-onda.

### El ritmo circadiano en las crisis de ausencia.

Los ritmos circadianos son mecanismos internos de control temporal que regulan una infinidad de procesos fisiológicos como el sueño, el metabolismo, la secreción hormonal y la termorregulación (Lee, Field and Sehgal, 2021). Estos ritmos influyen en las crisis de ausencia con una variación en la aparición de las crisis, en la frecuencia de aparición de las crisis entre el sueño y la vigilia, también pueden las oscilaciones circadianas (de alrededor de 24 horas) empeorar la actividad epiléptica (Smyk y Van Luijtelaar, 2020a).

Se ha documentado que las crisis de ausencia son más frecuentes durante los periodos de transición entre la vigilia y el sueño (Smyk y Van Luijtelaar, 2020b). En las crisis de ausencia en niños se ha mostrado que tiene dos picos: uno entre las 23:00 y las 07:00 horas y un segundo pico entre las 12:00 y las 16:00 horas, con dos valles entre las 09:00 y las 11:00 y entre las 18:00 y las 20:00 horas (Zarowski *et al.*, 2011). En algunos casos, las crisis de ausencia pueden tener una distribución aleatoria y no agruparse en un momento en particular del día esto debido a que no son constantes (Herman, Walczak and Bazil, 2001).

Mientras que en estudios en modelos animales se ha reportado que las ratas WAG/Rij muestran un claro ritmo circadiano en el número de las descargas espiga-onda, con un pico en la fase oscura y un mínimo al comienzo de la fase de luz (Shaw, 2004).

### Modelos animales que expresan las descargas espigas-onda.

Existen dos tipos de modelos animales para estudiar la fisiopatología de la epilepsia en general, los modelos inducidos farmacológicamente y los modelos genéticos (Jafarian, Esmaeil Alipour and Karimzadeh, 2020). Para el caso de las crisis de ausencia se muestran en la Tabla 5.

- Los modelos animales que son inducidos por fármacos son: el fármaco que inhibe a la enzima 7 deshidrocolesterol reductasa, denominada la rata AY-9944 (Cortes *et al.*, 2002), el modelo inducido por dosis baja de pentilentetrazol (LDPTZ) (Tang, Loke and Khoo, 2017), el modelo de la gamma-butirolactona (GHB) (Schep *et al.*, 2012), el modelo del fármaco

Tetrahidroisoxazolo (4,5-c) piridina 3-ol (THIP) (Krogsgaard-Larsen *et al.*, 1983), y el modelo del fármaco agente antimicótico metilzoximetano o MAM-AY (Serbanescu *et al.*, 2004).

- Los modelos animales genéticos son: la rata denominada Genetic Absence o por sus siglas en ingles GAERS (Rudolf *et al.*, 2004). La rata Wistar Albino Glaxo from Rijswijk o por sus siglas WAG/Rij (Es, 2015). La rata *taiep* la cual debe su nombre al acrónimo de sus signos motores que la caracterizan temblor, ataxia, inmovilidad en las patas traseras, epilepsia del tipo crisis de ausencia y parálisis a lo largo del primer año de vida (Holmgren *et al.*, 1989; Eguibar, 2010). Por otra parte, en ratones se ha descrito las descargas espiga-onda en ratones letárgicos (Burgess *et al.*, 1997.) y en el modelo *Tottering* mouse (Kim *et al.*, 2015).

Los modelos genéticos tienen una mayor validez en la investigación, pues presentan varias ventajas como son:

- Expresión de las DEOs y síntomas espontáneamente, lo que permite comprender la patogénesis de las crisis de ausencia generalizadas.
- Son un modelo biológico reproducible para estrategias experimentales como prevenir o revertir la aparición de las crisis.
- Son un modelo ideal para la neurobiología y neurofarmacología en el estudio de la sincronización cerebral anormal.
- Permiten estudiar la importancia de los genes individuales en la herencia genética de las crisis generalizadas en los mamíferos.
- Los modelos permiten evaluar la terapia génica (Crunelli y Leresche, 2002; Jafarian *et al.*, 2020).

Tabla 5. Modelos animales que expresan descargas espiga-onda en el EEG y conducta relacionada a las crisis de ausencia típicas.							
Modelos animales inducidos por fármacos		Característica principal	Ref.	Modelos animales genéticos		Característica principal	Ref.
AY-	Fármaco aplicado			Rata	Gen mutado		
9944	Inhibe la enzima 7-desidrocolesterol reductasa (7.5 mg/kg).	Se desarrollan las DEOs en la pubertad.	(Miguel A. Cortez et al., 2002).	GAERS	Mutación poligénica cromosomas 4,7 y 8. Genes que codifican para los canales de calcio tipo T.	DEOs de 7-10 Hz -Modelo de crisis de ausencia típica	(Rudolf et al., 2004).
LD-PTZ	Baja dosis de pentilentetrazol entre 20-30 mg/Kg (Antagonista del receptor $GABA_A$ ).	DEOs en ráfagas ocasionales, bilaterales sincrónicas de 6-7 Hz.	(Tang et al., 2017).	Rata WAG/Rij	Mutación poligénica en los cromosomas 5 y 9.	DEOs con 7 – 11Hz. -Modelo de crisis de ausencia típica.	(Es, 2015).
GHB	Gamma-butirolactona (un metabólico del $GABA_A$ ) (200 mg/Kg).	Caída de cabeza, dilatación pupilar, mirada fija y automatismos DEOs de 2.5 Hz	(Schep et al., 2012).	Rata <i>taiep</i>	Cromosoma 9, gen que codifica para la proteína $\beta$ -tubulina.	DEOs con 5-8 Hz Duración promedio de 5 segundos. -Modelo de crisis de ausencia típica	(Duncan et al., 2017; Eguibar and Cortés, Carmen, 2010).
THIP	Tetrahydroisoxazolo (4,5-c) piridina 3-ol (Agonista para el receptor $GABA_A$ ). (7.5 mg/Kg).	DEOs duran de 7 a 9 segundos.	(Krogsgaard-Larsen et al., 1983).	Ratones Letárgicos	Cromosoma 2, gen que codifica la subunidad $B4$ del canal de calcio voltaje dependiente	DEOs de 5-7 Hz. -inmovilidad -problemas en la coordinación y automatismos.	(Burgess et al., 1997.).
MAM-AY	Agente antimicótico metilazoximetano.	DEOs de 4 – 6 Hz.	(Serbanescu et al., 2004).	Tottering mouse	Cromosoma 8, gen que codifica la subunidad $\alpha 1A$ del canal de Calcio voltaje dependiente.	-Modelo de ataxia. -Modelo de crisis de ausencia infantil, DEOs en 6-7 Hz.	(Kim et al., 2015).

AY-9944, inhibidor de la enzima 7-desidrocolesterol reductasa., LD-PTZ, Low-dose Pentilentetrazol., GHB, Ácido  $\gamma$ -hidroxibutírico o gamma-hidroxibutirato., THIP, 4,5,6,7-Tetrahydroisoxazolopyridinol, también conocido como Gaboxadol., MAM-AY Metilazoximetanol Acetato o MAM en combinación con AY-9944., GAERS Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg., WAG/Rij Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats.

50

### Modelo de crisis de ausencia: la rata *taiep*.

La rata *taiep*, es un mutante de tubulinas que se obtuvo de manera espontánea en una colonia de ratas Sprague Dawley en el proceso para obtener un modelo de rata con una alta frecuencia de bostezo mediante cruzamiento endogámico y en la generación F4 por una mutación espontánea se obtuvo a la rata *taiep*; la cual desarrolla un síndrome motor progresivo caracterizado por temblor, ataxia, episodios de inmovilidad, epilepsia y parálisis de las patas traseras, los cuales son signos motores que forman el acrónimo *taiep* (Holmgren *et al.*, 1989; Eguibar, 2010) Figura 6.

### Signos y síntomas motores de la rata *taiep*:

- Temblor: se presenta con una frecuencia de 14 Hz en el primer mes de vida y decrece en su frecuencia y aumenta en su amplitud con la edad de las ratas macho.
- Ataxia: aparece a los dos meses de edad y se incrementa con la edad.
- Episodios de inmovilidad: se inician a los 6 meses de edad y su pico se presenta entre los 8 y 9 meses de edad tanto los episodios de inmovilidad se presentan tanto en forma espontánea, como inducido al sujetar súbitamente

a las ratas por la cola o por el tórax, siendo la cola el modo más efectivo para inducirla.

- Epilepsia: inicialmente se reportó por estímulos auditivos inducidos por chicharra de 103 dB y con un amplio rango de frecuencias. Poco después se describió que las ratas *taiep* presentan descargas espiga-onda que son vinculadas a las crisis de ausencia en humanos. Tienen una frecuencia principal de  $6.25 \pm 0.4$  Hz, y con ritmo theta en el hipocampo entre 5 hasta 8 Hz.
- Parálisis de las patas traseras se presenta después de los 12 meses de edad afectando más a los machos que a las hembras (Cortés et al., 2005; Eguibar, 2010; Holmgren et al., 1989; Cortés y cols., sometido a consideración editorial).

#### Características generales de la rata *taiep*.

La rata *taiep* presenta una mutación homocigota en el cromosoma 9 para el gen tubulina  $\beta 4\alpha$  (*Tubb4a*), la cual se expresa en gran medida en los oligodendrocitos recién formados y mielinizados, los cuales son los más afectados que las neuronas (Garduño-Robles et al., 2020).

La mutación es un cambio de una adenina por una guanina que produce un cambio en el aminoácido alanina en la posición 302 por una treonina (Ala302Thr). La función de la  $\beta$ -tubulina es la de participar en las interacciones laterales entre los heterodímeros de  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina, que se ensamblan para formarlos microtúbulos cilíndricos, lo que limita el tránsito celular entre el retículo endoplasmático y la posición *cis* del aparato de Golgi (Garduño-Robles et al., 2020; Lopez-Juarez et al., 2021; Roncagliolo et al., 2006).

La acumulación de microtúbulos en los oligodendrocitos lleva a una disfunción en la producción y mantenimiento de la mielina, lo que provoca una hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva en el sistema nervioso central, y que hace a la rata *taiep* como el único biomodelo para la leucodistrofia denominada Hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC)

(Garduno-Robles *et al.*, 2020; Alata *et al.*, 2021; Lopez-Juarez *et al.*, 2021; Eguibar *et al.*, 2024a).

El peso corporal de las ratas *taiep* hembras a la edad de 30 días es en promedio de  $77.2 \pm 3$  g en comparación con la rata Sprague-Dawley que presenta en promedio un peso de  $99.2 \pm 5.9$  g significativamente diferentes entre sí (Muñoz-de-la-Torre *et al.*, 2018).

#### Características electrofisiológicas de la rata *taiep*.

Los potenciales provocados auditivos del tronco encefálico (ABR): la rata *taiep* presenta una disminución en la velocidad de conducción nerviosa en las áreas mielinizadas por los oligodendrocitos, con un aumento progresivo en la latencia de las ondas II a IV, que representan la activación en las vías de relevo en el tronco encefálico de la vía auditiva (Lopez-Juarez *et al.*, 2021; Eguibar *et al.*, 2024b).

Los potenciales provocados visuales: los componentes centrales de los potenciales provocados visuales se alteran y retardan debido a la desmielinización (Eguibar *et al.*, 2024a). Por otra parte, en el nervio óptico aislado de la rata *taiep* en condiciones *in vitro* el potencial de acción compuesto (PAC) tiene una disminución significativa en la velocidad de conducción. De hecho, en el primer mes la velocidad de conducción alcanzan solo el 30% de la velocidad en comparación con las ratas control y hasta los 6 meses la velocidad de conducción disminuye progresivamente afectando la morfología de los PAC en el nervio óptico (Roncagliolo *et al.*, 2006).

Los potenciales provocados somatosensoriales y motores: las ratas *taiep* muestran alteraciones en los componentes centrales, lo que soporta una afectación de las vías nerviosas sensoriales y motoras (Eguibar *et al.*, 2014).

#### Actividad electroencefalográfica de la rata *taiep*.

Las descargas espiga-onda que presenta la rata *taiep*, tiene una duración promedio de  $5.7 \pm 0.12$  segundos y una frecuencia de  $6.25 \pm 0.4$  Hz en los machos (Eguibar, 2010, Cortés y cols., sometido a consideración editorial).

Ritmo circadiano de las descargas espiga-ondas en la rata *taiep*.

Al analizar la relación entre las diferentes etapas del ciclo sueño-vigilia y su asociación con las descargas espiga-onda, se ha demostrado que la mayor frecuencia de las DEOs sucede durante la vigilia, con una disminución significativa de las DEOs durante el sueño de ondas lentas y en el sueño con movimientos oculares rápidos (Eguibar y Cortés, 2010).

El pico de la duración promedio de las DEOs se presenta entre las 20 y las 24 horas en comparación con un menor tiempo de duración entre las 2 y 6 horas de la mañana (Eguibar, 2010).

#### Características hormonales de la rata *taiep*.

Las ratas *taiep* hembras a la edad de 30 días postnatales (DPN) muestran un nivel sérico de estradiol y progesterona promedio de aproximadamente 62 pg/mL y 5 ng/mL, con un nivel de testosterona promedio de 0.48 ng/mL. Las ratas *taiep* hembras de 90 días muestran un nivel sérico de 58 pg/mL de estradiol, 18 ng/mL de progesterona y 0.7 ng/mL de testosterona. Los valores de la testosterona en la rata *taiep* se encuentran 21% por arriba de los valores de las ratas Sprague-Dawley, en el caso de la progesterona y el estradiol no hay diferencias significativas en la etapa juvenil, pero en el caso de la etapa adulta los niveles séricos del estradiol se reducen a la mitad y la progesterona aumenta 20 veces, en comparación con las ratas Sprague-Dawley (Muñoz-de-la-Torre *et al.*, 2018).

El ciclo estral de la rata *taiep* presenta patrones irregulares con mesetas en diestro, en estro persistente, entre las edades de 70 a 85 días, en comparación con el ciclo estral de la rata hembra Sprague-Dawley de la misma edad que muestran ciclos regulares (Muñoz-de-la-Torre *et al.*, 2018).

#### Dimorfismo sexual en las descargas espiga-onda en modelos genéticos de las crisis de ausencia humanas.

Diferencias en la expresión de las descargas espiga-onda en modelos animales. En la Tabla 6 se muestra los diferentes modelos animales en crisis de ausencia humanas y su dimorfismo sexual en la expresión de las descargas espiga-onda. El modelo *taiep* es el único que ha mostrado una diferencia puntual en machos en

etapa neonatal y en etapa adulta, mostrando así que los andrógenos ejercen una acción en la frecuencia las descargas espiga-onda.

Tabla 6. Diferencias sexuales en las descargas espiga-onda en diferentes modelos animales.							
Modelo animal en crisis de ausencia		Duración promedio	Duración total	Frecuencia	Aumento de las DEOs	Disminución de las DEOs	Ref.
WAG/Rij 4 a 10 meses de edad.	Hembras	+	+	+	Proestro	Embarazo	Lazarini-Lopes et al., 2021; van Luitelaar et al., 1996.
	Machos	+++	+++	+++	Testosterona	Gonadectomía	
GAERS 4 meses de edad	No hay diferencia entre sexos Al menos en las primeras 3 horas matutinas.						Van Luitelaar et al., 2014b.
AY-9944	Hembras	+++	+++	+++			Cortez et al., 2002.
	Machos	+	+	+			
Taiep 3 meses de edad	Hembras	+	+	+			Cortes y cols 2024.
	Machos	+++	+++	+++	Orquiectomía realizada en la edad adulta	Orquiectomía en la edad neonatal	

### Modulación hormonal en las descargas espiga-onda en modelos animales.

Las hormonas sexuales influyen en la excitabilidad neuronal mediante mecanismos específicos como son:

- La modulación alostérica positiva de los receptores tipo  $GABA_A$  y  $GABA_B$ .
- La activación directa de estos receptores por concentraciones altas de neuroesteroides.
- Al estimular la expresión de las subunidades de los receptores  $GABA_A$  y  $GABA_B$ .
- Efectos sobre la neurotransmisión glutamatérgica y/o GABAérgica.
- A través del ciclo estral (Cortes et al., 2016).

A continuación, se exponen una serie de resultados de estudios en los que se ha tenido como objetivo entender el papel de las hormonas exógenas y endógenas, en la modulación de las descargas espiga-onda tanto en hembras como en machos.

Las hormonas endógenas y su efecto sobre las descargas espiga-onda.

En el modelo de crisis de ausencia atípicas ratas Long-Evans con un inhibidor de la síntesis de colesterol AY9944 (AY) él cual induce crisis de ausencia atípicas, se ha mostrado que las hormonas ováricas regulan la intensidad en la duración de las crisis de ausencia atípicas, ya que son más frecuentes en la etapa de proestro del

ciclo estral, y que la administración de progesterona o de alopregnanolona, un derivado  $5\alpha$ - $3\alpha$  reducido de la progesterona, el cual exacerba la duración las descargas espiga-onda, mientras que el  $17\beta$ -estradiol atenuó la duración de las descargas espiga-onda en dicho modelo (Persad *et al.*, 2004).

La menor cantidad de unión al receptor  $GABA_B$  por el baclofeno, un agonista para este receptor, produce durante la etapa de diestro, una reducción de las crisis de ausencia y los niveles de progesterona son bajos; mientras que la unión al baclofeno se incrementa durante el proestro, que es cuando las descargas espiga-onda alcanzan un pico, corresponde a niveles de progesterona también altos (Persad *et al.*, 2004).

En las ratas WAG/Rij hembras durante el embarazo suprimieron las DEOs, lo que se correlaciona con niveles elevados de progesterona (Tolmacheva *et al.*, 2004).

En el modelo WAG/Rij en las ratas hembras tuvieron una variación circadiana de las DEOs al aumentar su frecuencia en las primeras seis horas del proestro, y con una diferencia en las primeras seis horas de la fase oscura respecto a lo obtenido en los machos (Van Luijtelaar and Coenen, 1988a).

La testosterona tiene un efecto anti crisis de ausencia, pues al comparar el grupo de ratas macho WAG/Rij con gonadectomía con ratas machos no castradas, la orquiectomía disminuyó la frecuencia de las DEOs, mientras que el segundo incremento su incidencia (van Luijtelaar *et al.*, 1996).

En un estudio realizado por Cortes *et al.* (2022) en ratas *taiep* macho, la orquiectomía en la edad adulta aumentó significativamente la frecuencia de las descargas espiga-onda, lo que sugiere que la presencia de andrógenos en la edad adulta tiene un efecto protector contra las DEOs. Sin embargo, la orquiectomía en el periodo neonatal redujo significativamente la frecuencia de las DEOs lo que indica que la exposición a los andrógenos en este periodo crítico, puede aumentar la susceptibilidad a las DEOs debido a la organización de las estructuras cerebrales (Cortés *et al.*, 2022).

Las hormonas exógenas y su efecto sobre las descargas espiga-onda.

En hembras intactas AY, al administrar progesterona y/o  $17\beta$ -estradiol asociado con mifepristona y/o tamoxifeno bloqueadores de este tipo de receptores, respectivamente, el efecto sobre las descargas espiga-onda fueron específicos; la administración aguda de la progesterona aumento el número y la duración de las descargas espiga-onda, al igual que la coadministración con mifepristona, lo que sugiere que la progesterona está actuando a través de un mecanismo independiente de sus receptores intracelulares. En el caso de la administración del  $17\beta$ -estradiol disminuyó el número y la duración de las descargas espiga-onda, al igual que su administración con el tamoxifeno, lo que indica que al igual que la progesterona, el  $17\beta$ -estradiol actúa por mecanismos no genómicos (Persad et al., 2004).

El grupo de investigación del profesor Van Luijtelaar et al., (1996) al comparar un grupo de ratas hembra ovariectomizadas respecto a las hembras no gonadectomizadas, sus resultados no mostraron diferencias significativas en la frecuencia de las DEOs a los 3 meses después de haber ejecutado la ovariectomía. Por otra parte, Tolmacheva y van Luijtelaar en 2007 (2007) no obtuvieron diferencias en la expresión basal de las DEOs de las ratas ovariectomizadas en comparación del grupo de ratas hembra intactas, esto al menos a lo largo de un mes (van Luijtelaar *et al.*, 1996; Tolmacheva and van Luijtelaar, 2007).

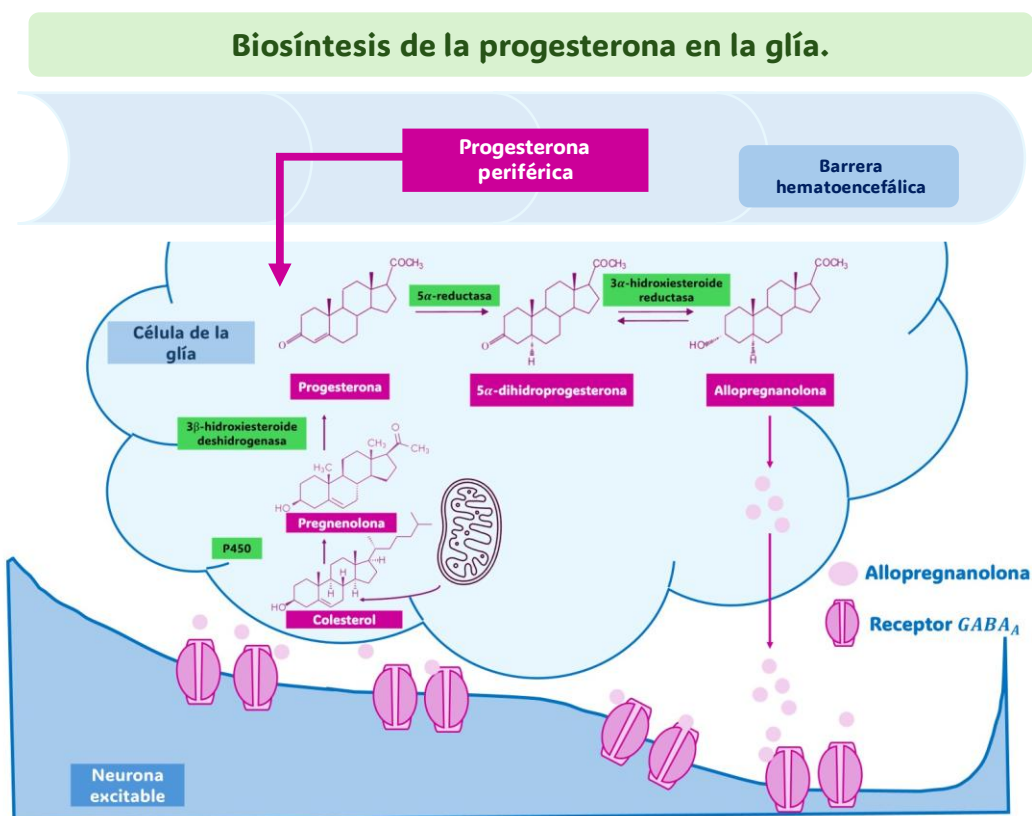
Sin embargo, el grupo de Yildiz et al., (2011), mostraron un aumento de las DEOs en ratas WAG/Rij ovariectomizadas entre los 7 y 11 días después del procedimiento quirúrgico (Yildiz *et al.*, 2011).

La administración de progesterona por vía intracerebral en las ratas macho WAG/Rij disminuyó la duración de las DEOs así como la frecuencia, siendo las primeras horas de la fase de luz las que mostraron diferencias significativas (Tolmacheva y Van Luijtelaar, 2007).

La administración aguda de testosterona no modifica la frecuencia, ni la duración media de las DEOs en machos *taiep* control en comparación con machos orquiectomizados en la etapa neonatal o adulta (Cortés et al., 2022).

El acetato de medroxiprogesterona como neuroesteroide.

Los neuroesteroides son sintetizados *de novo* en el cerebro independientemente de sus fuentes periféricas, tanto en la glía como en las neuronas, en el caso de la progesterona es a través de la acción de la enzima que reduce el primer anillo de la cadena lateral que forma pregnenolona a partir del colesterol, y por la acción de la 3- $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa biotransforma en progesterona (Smith *et al.*, 2007) ver figura 6.



**Figura 6. Biosíntesis de la progesterona en la glía.** La progesterona es un esteroide derivado del colesterol y aunque, es sintetizada principalmente en los ovarios, también se sintetiza en el sistema nervioso central, a través de la glía, por la enzima P450. La alopregnanolona es un neuroesteroide derivado de la progesterona que actúa como un potente modulador alostérico positivo del receptor GABA<sub>A</sub>.

La medroxiprogesterona, es un progestágeno sintético, con fórmula de C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>, que se ha utilizado en el tratamiento de las convulsiones en mujeres,

particularmente en casos de epilepsia de catamenial, ya que las convulsiones se exacerban en relación a la etapa del ciclo menstrual (*Herzog, 1995b*).

Por otra parte los progestágenos, pueden disminuir la frecuencia de las convulsiones, posiblemente debido a sus efectos sobre la excitabilidad neuronal en el sistema nervioso central, y específicamente sobre el receptor  $GABA_A$  al reducir la excitabilidad neuronal (*Kapur y Joshi, 2021*).

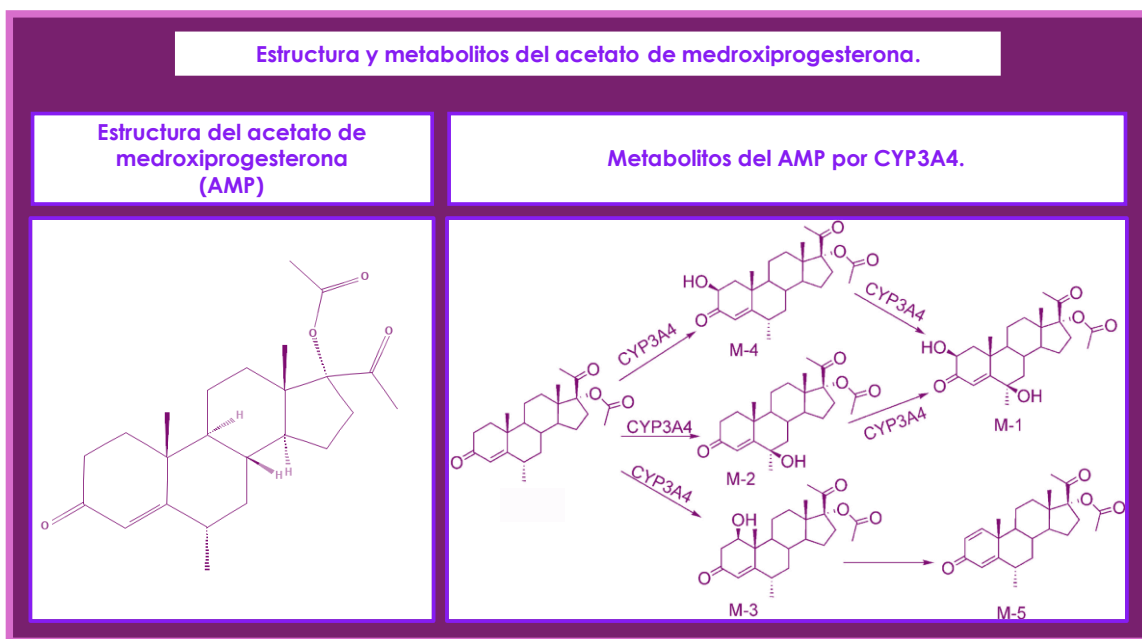
La medroxiprogesterona de depósito administrada por vía intramuscular proporciona una liberación lenta y por lo tanto produce niveles plasmáticos sostenidos, por lo que es más eficaz que la presentación de progesterona oral (*Zimmerman et al., 1973*). El acetato de medroxiprogesterona (MPA) se une al receptor de progesterona en el hipotálamo, que, a su vez previene la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina, lo que resulta en una cascada de eventos que conducen a la inhibición de la maduración folicular, la prevención de la ovulación y el engrosamiento del cuello uterino por la formación de moco en el cérvix, que, a su vez impide la movilidad de los espermatozoides hacia la cavidad uterina (*Griffin, 2024*).

Se ha reportado que el acetato de medroxiprogesterona provoca una prolongación significativa de las corrientes sinápticas de las células granuladas en el giro dentado del hipocampo, las cuales tienen una fuerte expresión del receptor  $GABA_A$  con la subunidad  $\delta$  en comparación con las neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo. Esto se ha obtenido en tratamientos con la administración de progesterona *in vitro* (*Belelli and Herd, 2003; Mostallino et al., 2006*).

Las progestinas se han utilizado como herramientas farmacológicas para investigar los mecanismos celulares controlados por las hormonas esteroideas, ya que exhiben una mayor afinidad por los receptores esteroideos en comparación con sus ligandos naturales, y un gran interés para el control de la ovulación y el control en un periodo de explosión demográfica global (*González-Flores et al., 2024*).

## Estructura química del acetato de medroxiprogesterona.

El acetato de medroxiprogesterona es un éster acetato resultante de la condensación del grupo  $17\alpha$  – hidroxilo de la medroxiprogesterona con el grupo carboxi del ácido acético, esta hormona se aprobó en 1959 como un nuevo anticonceptivo, (véase Figura 7).



**Figura 7. Estructura y metabolitos del acetato de medroxiprogesterona.** El acetato de medroxiprogesterona es un esteroide con cuatro anillos fusionados, un acetato en la posición 17, un grupo ceto en la posición 3 y un grupo hidroxilo en la posición  $17\alpha$ . El acetato de medroxiprogesterona por el citocromo CYP3A4 forman los metabolitos  $17\alpha$ -hidroxi-MPA o M-4 que resultan de la hidroxilación en la posición 17,  $6\alpha$ -hidroxi-MPA o M-3 producto de la hidroxilación en la posición 6,  $6\beta$ -hidroxi-MPA o M-2 derivado de la hidroxilación en la posición 6, otros metabolitos se forman por conjugados glucurónidos y sulfatos.

## Farmacocinética del acetato de medroxiprogesterona.

El acetato de medroxiprogesterona o  $17\alpha$ -acetoxi- $\alpha$ -acetoxi- $6\alpha$ -metilpregn-4-enen-3,20-diona, también conocido como metil-acetoxiprogesterona, medroxiacetato de progesterona o metigestrona, siendo un derivado sintético de la progesterona que

por sus propiedades farmacocinéticas resiste los mecanismos de degradación hepáticos (Bunke, 1972).

### **Absorción.**

El acetato de medroxiprogesterona se absorbe según su sitio de aplicación, la vía intramuscular o la subcutánea, estos al ser sitios de flujo sanguíneo lento, en comparación con la vía venosa, lo que permite que el fármaco se libere en pequeñas cantidades durante un tiempo prolongado (Etienne *et al.*, 1992).

### **Biodisponibilidad.**

Cuando el AMP es administrado por vía intramuscular su biodisponibilidad es de un 100%, respecto de su biodisponibilidad por la vía oral que es muy baja entre un 5 hasta un 15% ya que se tiene un intenso metabolismo que se lleva a cabo en intestino y el hígado (Etienne *et al.*, 1992).

### **Metabolismo.**

El AMP se metaboliza en el anillo A, y se ha mostrado que varios metabolitos del MPA en el plasma y en la bilis, son reducidos en el anillo A, por la enzima CYP3A4 hepática que hace una beta hidroxilación alifática. Por lo que se forman, los siguientes metabolitos:

- El 6-beta (M-2).
- El 2-beta (M-4).
- 1-beta- acetato de hidroximedroxiprogesterona (M-3)

A partir de estos metabolitos se forman a su vez los siguientes:

- De los metabolitos M-2 y M-4 se forma el metabolito 2-beta,6-beta-dihidroximedroxiprogesterona o M-1.
- Del metabolito M-3 se forma el metabolito acetato de 1,2-deshidromedroxiprogesterona o M-5, ver figura 7 y Tabla 7 (Fotherby, 1996; Djoumbou-Feunang *et al.*, 2019).

<b>Tabla 7. Metabolitos del acetato de medroxiprogesterona.</b>			
<b>Metabolito</b>	<b>Estructura</b>	<b>Enzima principal</b>	<b>Actividad biológica</b>
<b>M-1</b>	MPA-libre	Esterasas	Activa
<b>M-2</b>	6 $\beta$ -hidroxi-MPA	CYP3A4	Inactiva
<b>M-3</b>	6 $\alpha$ -hidroxi-MPA	CYP3A4	Inactiva
<b>M-4</b>	17 $\alpha$ -hidroxi-MPA	CYP3A4	Inactiva
<b>M-5</b>	Conjugados (glucurónidos)	UDP-glucuronosiltransferasas	Inactiva

### **Vida media del acetato de medroxiprogesterona.**

El acetato de medroxiprogesterona cuando se administra por vía intramuscular tiene una absorción de vida media de  $20.64 \pm 7.2$  horas con una vida media de  $20.64 \pm 7.2$  horas en humanos (Goodman, 2006).

### **Mecanismo de acción del acetato de medroxiprogesterona.**

El MPA inhibe la producción de gonadotropinas en la hipófisis, además de que reduce los receptores nucleares del estrógeno lo que impide la maduración folicular y la ovulación impidiendo el embarazo, a través de que induce un adelgazamiento del endometrio al reducir la síntesis de ácido desoxirribonucleico o ADN en las células epiteliales del endometrio, también se ha mostrado que induce la apoptosis de las células cancerosas por vía del p53 (Bunke, 1972).

Se ha descrito otros efectos del acetato de medroxiprogesterona con relación al sistema nervioso central es su efecto a largo plazo del MPA en la cognición, ya que, según el estudio de Braden (2011). Tras exponer a ratas hembras Fisher-344 ovariectomizadas de manera temprana y tardía a la administración del AMP con un deterioro en la memoria de trabajo, los investigadores sugieren que los efectos del MPA es a través de disminuir la enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD) en el hipocampo dorsal (Braden *et al.*, 2011). Dadas las características del AMP, este es un esteroide con propiedades farmacocinéticas que lo hacen útil para el análisis de los efectos progestagénicos en el sistema nervioso central.

## 2. Planteamiento del problema.

La epilepsia es una enfermedad común que afecta entre el 0.5 y el 1% de la población general, con una incidencia acumulada de un 3% (Fiest et al., 2017).

En el caso de las crisis de ausencia infantil afectan entre un 10 hasta un 17 % de todos los niños con epilepsia, es la más común en pacientes pediátricos en edades de 4 y 14 años (Gregorčič *et al.*, 2022).

Los medicamentos en la mayoría de los casos son generalmente asociados con un deterioro cognitivo mínimo o nulo a largo plazo y en el neurodesarrollo principalmente cuando hablamos de las crisis de ausencia infantil y juvenil (Callenbach et al., 2009, Brouwer 2009). Por ello es importante innovar en terapias con menor riesgo de efectos en el neurodesarrollo y evitar su progresión ya que provocan deterioro cognitivo.

Otros factores que se acompañan en las crisis de ausencia son la carga personal, familiar y social de las crisis de ausencia es considerable, la cual está influenciada por los síntomas inmediatos de las crisis y las comorbilidades psiquiátricas asociadas incluyendo las alteraciones en la atención, en la cognición como la memoria y del estado de ánimo (Masur et al., 2013).

Son diversos los factores que pueden agravar las convulsiones, entre ellos son la falta de sueño, las enfermedades concurrentes, el consumo de alcohol, las interacciones farmacológicas, cambios hormonales principalmente en las mujeres (Somerville, 2009).

La terapia hormonal es un enfoque complementario para el tratamiento de las crisis epilépticas; aunque las investigaciones sobre el posible rol en las crisis de ausencia, por lo que el efecto teórico del acetato de medroxiprogesterona es anticonvulsivo ya que disminuye la frecuencia de las crisis convulsivas (Mattson et al., 1984b). Sin embargo, no se conoce el rol que se ejerce sobre las crisis de ausencia.

No se ha podido determinar los mecanismos que predisponen a las mujeres a presentar crisis de ausencia generalizadas, y por qué son más susceptibles a presentar síndromes típicos de epilepsia generalizada (Savic, 2014). Es por esto

que las investigaciones se ha determinado que los modelos animales con crisis de ausencia son fundamentales para revelar los procesos involucrados en el aumento de la incidencia en las mujeres y poder abordar de una manera más adecuada a la epilepsia en las mujeres, tomando en consideración los cambios hormonales en el ciclo menstrual y a lo largo del ciclo vital la reducción de las crisis (Tolmacheva y van Luijtelaar, 2007).

En la investigación sobre los neuroesteroides y la excitabilidad neuronal no se ha determinado. El efecto de la progesterona según su ruta de administración y su dosis, hace relevante su investigación sobre todo en el ciclo menstrual de la mujer, así como en el embarazo o la lactancia (Kapur and Joshi, 2021a).

### 3. Justificación.

La investigación y evaluación de las diferencias sexuales en la susceptibilidad y gravedad de las crisis epilépticas tiene un alto interés ya que el sexo de los sujetos puede desempeñar un papel relevante en la severidad de las crisis y en la eficacia de los tratamientos (Christian *et al.*, 2020b). Los cuales pueden ser la base para las nuevas opciones terapéuticas.

Estudiar la incidencia y la duración de las DEOs en un biomodelo es relevante porque permite explorar cómo las diferencias biológicas entre los sexos influyen en la susceptibilidad y en las características de las descargas espiga-onda, en sus componentes de frecuencia y a la sensibilidad a diferentes opciones terapéuticas.

En el caso de la progesterona ha sido identificada como una hormona de acción dual debido a su capacidad de ejercer efectos tanto excitatorios como inhibitorios sobre el sistema nervioso central, dependiendo del contexto neuroquímico y de la presencia de sus metabolitos (Kapur y Joshi, 2021).

La progesterona puede actuar como un modulador alostérico positivo para los receptores  $GABA_A$  a través de su conversión en alopregnanolona o  $5\alpha,3\alpha$ -pregnanolona, lo cual incrementa la inhibición neuronal y provoca una inhibición en la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda (Kapur y Joshi, 2021).

El dimorfismo sexual en la expresión de las descargas espiga-onda en la rata taiep es la base para determinar el rol de la progesterona y podrían tener efectos diferenciados en machos y en las hembras en cuanto a la susceptibilidad, a presentar las DEOs. Adicionalmente los resultados nos permitirán generar conocimientos que sirva para tener tratamientos personalizados, que tomen en cuenta tanto el sexo como los niveles hormonales tanto en animales como en humanos.

## 4. Pregunta de investigación

¿Cuál es el efecto de la administración de una progestina sintética de acción prolongada como es el acetato de medroxiprogesterona en las descargas espiga-onda en las ratas *taiep* machos y hembras?

### 4.1 Hipotesis

$H_0$ : La administración de acetato de medroxiprogesterona no incrementará la frecuencia y la duración las descargas espiga-onda tanto en ratas *taiep* machos como en hembras.

$H_A$ : La administración de acetato de medroxiprogesterona aumentará la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras y machos.

## 5. Objetivos.

### 5.1. Objetivo general.

- Evaluar el efecto de la administración sistémica del acetato de medroxiprogesterona en las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembras y machos.

### 5.2. Objetivos específicos

- Realizar un registro EEG control de 24 horas de duración para determinar la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda.
- Evaluar dos registros EEG experimentales de 24 horas cada uno, administrando sistémicamente acetato de medroxiprogesterona con las dosis de 5 y 10 mg/Kg de peso y evaluar la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda.
- Comparar los resultados obtenidos del registro en condiciones control y los registros después de administrar el acetato de medroxiprogesterona.
- Analizar los resultados mediante ANOVA de medidas repetidas seguido de una prueba Dunnett.
- Graficar los resultados empleando el programa Sigma-Plot versión 14.5.

## 6. Metodología.

Para este estudio se utilizaron ratas *taiep* hembras ovariectomizadas a la edad de  $170 \pm 5$  DPN y ratas *taiep* machos de  $175 \pm 5$  DPN a las cuales se les efectuó una cirugía estereotáxica para el implante de electrodos y poder así realizar tres registros electroencefalográficos, siendo el primero el registro control y los dos subsecuentes son los registros experimentales con la administración de 5 y 10 mg/Kg de peso. Para ser evaluados para cuantificar las descargas espiga-onda y su duración (véase Figura 7).



**Figura 8. Diseño experimental de la administración del acetato de medroxiprogesterona en ratas hembra *taiep* ovariectomizadas y machos *taiep* para la evaluación de las descargas espiga-onda.**

### Sujetos de investigación.

Los animales de experimentación usados fueron ratas *taiep* de ambos sexos, de 160 y 180 días DPN los cuales fueron provistas por el Bioterio de Investigación del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los sujetos de experimentación se mantuvieron en un ciclo de luz-oscuridad 12:12 con encendido de las luces a las 0700 horas, con una temperatura a  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  y una humedad relativa de 30-45%.

Ratas hembra y machos *taiep*.

Las hembras *taiep* se recibieron a la edad de  $160 \pm 5$  DPN durante la primera semana de su estancia en un cubículo de investigación sonoamortiguado y aislado eléctricamente específico en el Laboratorio de la Conducta y del Control Motor, en el cual permanecieron en habituación hasta los  $170 \pm 5$  DPN cuando se les efectuó una ovariectomía que se describe más adelante. Después de la cirugía se consideraron entre  $10 \pm 5$  días de recuperación y a la edad de 180 días  $\pm 5$  DPN se realizó la cirugía estereotáxica para el implante de los electrodos, con un tiempo de recuperación de 5 días más 3 días de habituación con la caja de registro para después realizar los registros EEG.

Machos *taiep*.

Los machos *taiep* se recibieron a la edad de  $175 \pm 5$  DPN durante la primera semana de su estancia en el Laboratorio de la Conducta y del Control Motor permanecieron en habituación para que a la edad de 180 días  $\pm 5$  DPN se realizó la cirugía estereotáxica para la colocación de los electrodos, se dio un tiempo de recuperación de 5 días, seguido de 3 días de habituación a la caja de registros para después continuar con los registros EEG.

Ovariectomía.

Primero se realiza asepsia en una mesa quirúrgica (Panlab®, México). El animal se coloca sobre una almohadilla térmica sobre la plataforma quirúrgica, se realiza antisepsia de la región lumbar con yodopovidona al 10% (Isodine, Laboratorio®, S.A., México) y se realiza una incisión de 1 cm en la línea media justo por debajo de la última costilla. Se disecciona el tejido subcutáneo hacia uno de los lados de la incisión para exponer el músculo, se realiza un corte con una tijera Mayo y con la pinza hemostática Adison se localiza y extrae el ovario con su oviducto de la cavidad peritoneal. Se realiza una ligadura en el oviducto con la sutura de ácido poliglicólico "0000" por debajo de la pinza. Se procede entonces a remover el ovario cortando por arriba de la pinza con tijeras rectas tipo Mayo, se retira la gónada y se sutura el músculo con sutura de ácido poliglicólico "000". Posteriormente, se realizó el mismo

procedimiento en el otro lado de la incisión para retirar el otro ovario. Una vez finalizado el procedimiento se sutura la incisión de la piel con puntos separados con sutura de nylon "0000".

Cirugía estereotáxica.

Protocolo prequirúrgico.

Se prepara la mesa de trabajo en condiciones de asepsia para colocar al animal. Con el sujeto en la caja de anestesia, a una concentración del 5% de isoflurano y con el flujo de  $O_2$  a 1.5 L/min. Tras la inducción se coloca al animal en la mascarilla de oxígeno la cual ahora tiene una concentración de  $2.5 \% \pm 0.5$  de isoflurano para realizar una tricotomía en la cabeza, con una rasuradora eléctrica (Osner™, Estados Unidos de América). Se administró analgesia sistémica mediante la aplicación de mL/Kg del analgésico Meloxicam (Napzin® Pisa™, México) por vía subcutánea en la región dorsal del cuello.

Montaje en el equipo estereotáxico.

El sujeto de estudio se coloca en un equipo estereotáxico tipo Kopf (Modelo 900LS, Stoelting, Estados Unidos de América) y sobre un colchón calefactor para mantenerlo a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y se fija a los conductos auditivos externos y con la barra para los incisivos.

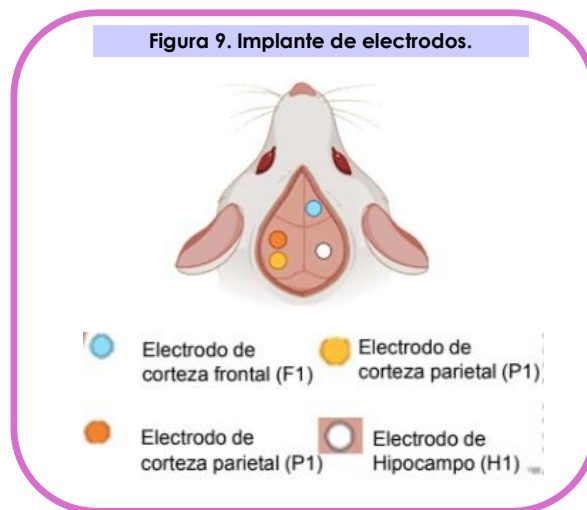
Cirugía e implante de electrodos.

Se realiza antisepsia con yodopovidona al 10% (Isodine®, México) en la región dorsal de la cabeza, para después realizar una incisión media en el del cráneo con un escalpelo del número 4 con una hoja de bisturí del número 20, se remueve el periostio con una legra y utilizando las coordenadas del atlas estereotáxico Paxinos & Watson (2013) y con un taladro manual (Stereon®, México) se realizan trépanos dirigidos a las cortezas cerebrales parietal y occipital.

Localización de los electrodos.

Se evalúa la posición de Bregma y Lambda y se ajustan a la misma altura con referencia al plano dorso-ventral para que la cabeza permanezca plana. Para el registro de la corteza cerebral se implantan tornillos de acero inoxidable. Para el hipocampo se implanta un electrodo bipolar de trenzado de iridio. Para el registro electromiográfico (EMG) se implanta dos electrodos de nicromio en los músculos de la nuca, y otro en la parte superior de la órbita ocular para el registro electrooculográfico (EOG). Los electrodos se fijan al cráneo con acrílico dental Nic tone, MDC® México. Las coordenadas para el implante fueron las siguientes:

Las coordenadas empleadas con respecto al punto bregma es en el eje anteroposterior -4 mm, al eje latero-medial -2.5 mm, al eje dorsoventral -2.5 mm (Figura 8).



**Figura 9. Implante de electrodos en cráneo.** La figura ilustra la posición de los electrodos craneales de registro con base a las coordenadas del atlas estereotáxico de Paxinos y Watson.

Protocolo posquirúrgico.

Después de la cirugía, los animales se mantienen con antibioticoterapia mediante la administración la dosis de 1 mL/Kg de peso de enrofloxacino y la dosis de 1 mL/Kg de peso del analgésico meloxicam durante tres días por vía subcutánea en la región dorsal del cuello.

Registros electroencefalográficos.

Habitación: previamente a los registros EEG se llevó a cabo la habitación, colocando a la rata en una caja con las mismas características de su caja de vida, la cual se ha adecuado para conectar al sujeto a un sistema móvil giratorio tipo “swivel” durante 3 horas por 3 días, con acceso a agua y alimento a libre demanda.

Los registros EEG se realizaron a la edad de  $190 \pm 5$  DPN con una duración de 24 horas y acoplado a videograbación sistema GRAEL (Reino Unido)- Las señales se filtran entre 0.5 Hz a 30 Hz, con el filtro de 60 Hz prendido. La señal es digitalizada a 200 Hz y proyecta en una computadora HD conectada a una pantalla plana LG™ (Japón). Para la evaluación de la conducta se usó una cámara Vivoter HD (Estados Unidos de América) que permiten evaluar el arresto motor durante las DEOs.

El registro control consistió en la video-grabación del EEG por 24 horas, con inicio a las 0800 horas y termino a las 0800 horas del siguiente día, previo a iniciar el registro se administró un vehículo que consistió en 0.2 mL de agua inyectable por vía intramuscular.

Los registros experimentales consistieron en la video grabación-EEG por 24 horas, con inicio a las 0800 horas y termino a las 0800 horas del siguiente día, previo a iniciar el registro se administró el acetato de medroxiprogesterona (Depo-Provera®, Laboratorio Pfizer México) por vía intramuscular a una dosis de 5 mg/Kg de peso y la segunda dosis de 10 mg/Kg, con un intervalo de tiempo de 72 horas entre cada dosis.

Evaluación de las descargas espiga-onda.

Para cuantificar las descargas espigas-ondas se tomó en cuenta lo siguiente que la actividad debía presentarse en todos los canales electroencefalográficos que la duración de las descargas espiga-onda debía ser mayor a 1 segundo, la frecuencia debía estar en el rango de entre 4 a 8 Hz. Conductualmente el animal debía permanece quieto.

Una vez identificadas las descargas espiga-onda, se cuantificó:

- La frecuencia de la DEOs cada dos horas.
- La duración de las crisis de ausencia en épocas de 2 horas.

### **Análisis estadístico.**

Utilizando el programa estadístico Sigma-Plot (Systat Software Inc., San José, CA Estados Unidos de América) versión 14.5 se graficaron la media  $\pm$  error estándar de la media (EEM) de la frecuencia y duración de las DEOs cada dos horas de cada grupo con los diferentes tratamientos hormonales. La frecuencia, la duración y la latencia se analizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 22.0 mediante una prueba *t* de Student para muestras independientes cuando se compararon únicamente dos grupos o mediante la prueba de varianza de medidas repetidas (ANOVA) seguido de la prueba de comparaciones múltiples en comparación con el control o Dunnett, cuando se compararon más de dos grupos. Se consideró como diferencia significativa cuando el valor de probabilidad fue de  $P \leq 0.05$ .

### **Análisis COSINOR.**

Para este estudio, se utilizó el modelo Cosinor en el programa MATLAB online para modelar la ritmicidad en la que se presentan las descargas espiga-onda. Los datos se alinearon en el marco de 24 horas, es decir en la duración circadiana.

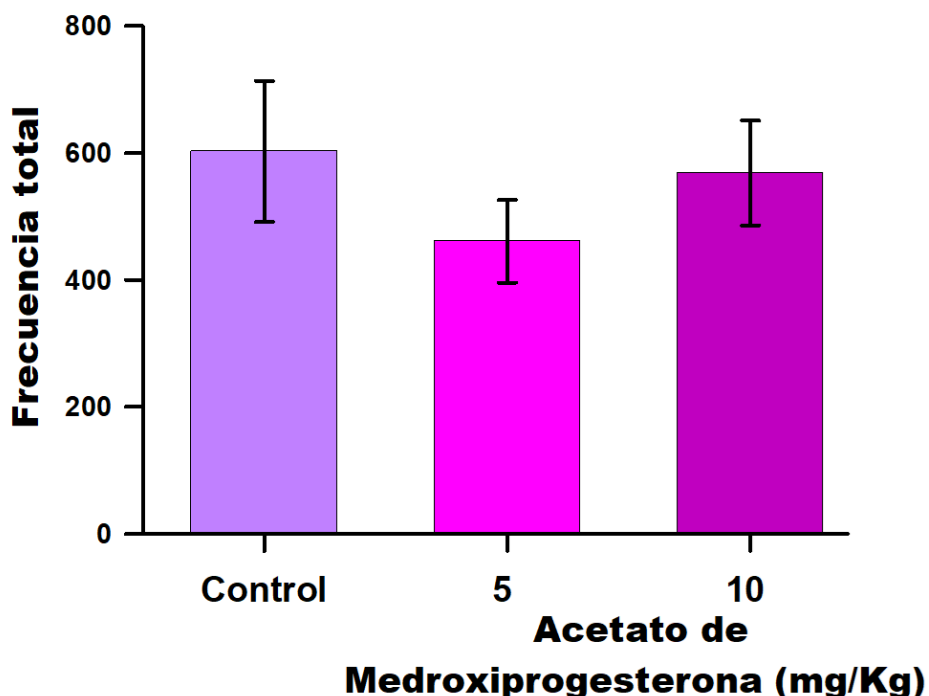
## **7. Bioética.**

Todos los procesos al intervenir en los sujetos de investigación se apegaron a la Norma Oficial Mexicana de las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999, SAGARPA, 2001), y la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos de América (National Academy of Sciences., 2011). El protocolo de investigación fue avalado por el Comité para el Uso de Animales de Investigación de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

## 8. Resultados.

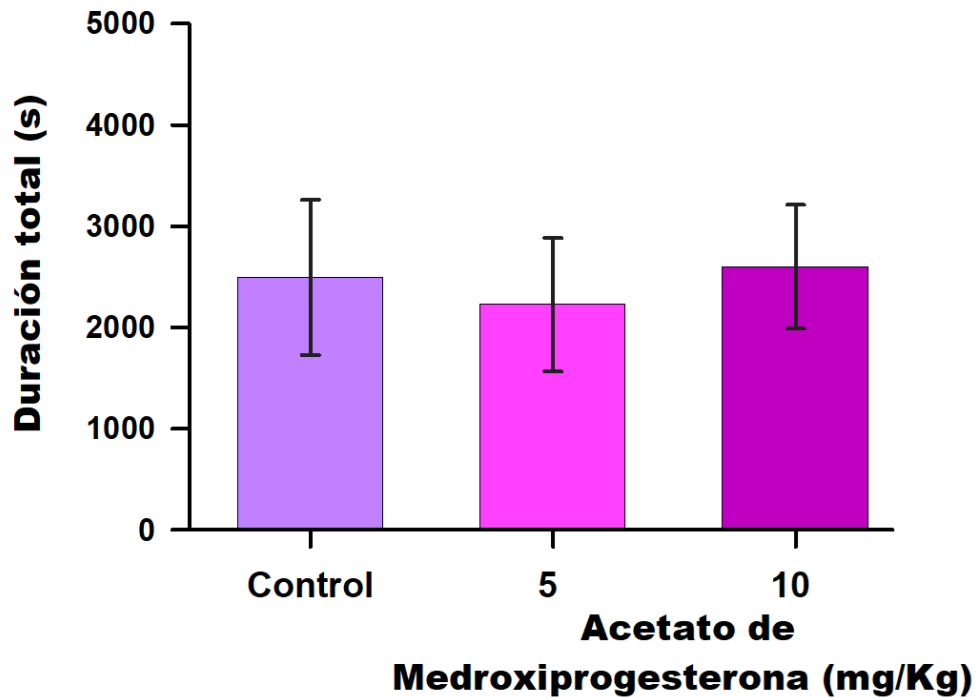
### Hembras *taiep*.

En la frecuencia de las descargas espiga-onda del grupo de ratas hembra *taiep* ovariectomizadas no se obtuvo una disminución significativa con ninguna de las dosis de 5 y 10 mg/Kg de acetato de medroxiprogesterona (Ver Figura 10).



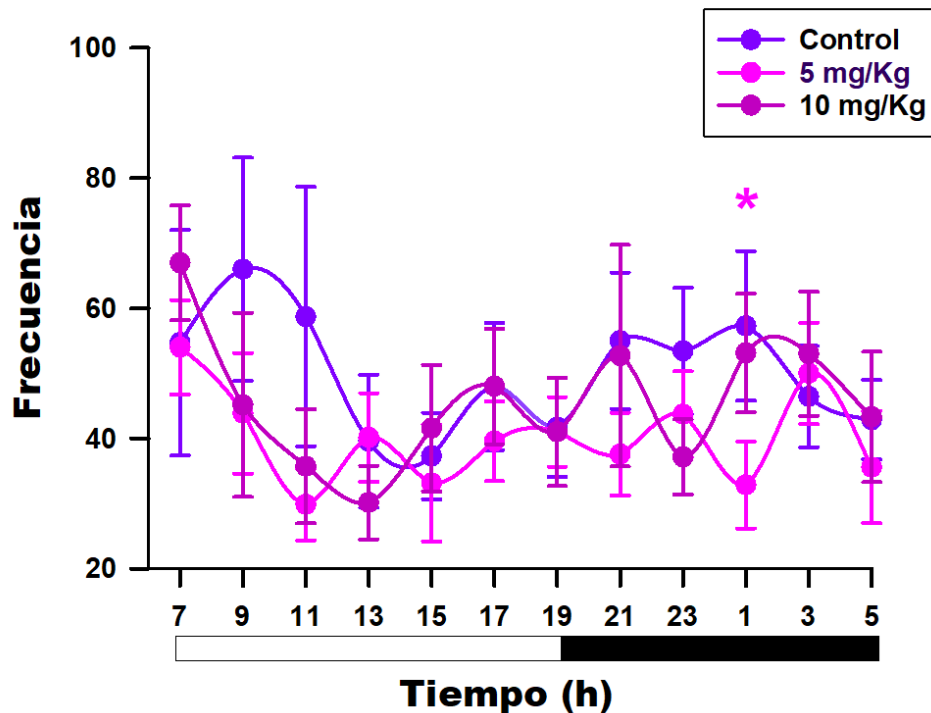
**Figura 10. Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembra ovariectomizadas.** Los resultados de la administración del acetato de medroxiprogesterona tienden a disminuir la incidencia de las descargas espiga-onda a lo largo de un ciclo circadiano, sin embargo, ninguna dosis alcanzó significancia estadística.

La suma del tiempo de las descargas espiga-onda a lo largo del ciclo circadiano tiene diferencia significativa con la dosis de 5 mg/Kg en comparación con el grupo control, con la dosis de 10 mg/Kg no se obtuvo ningún cambio (ver Figura 11).



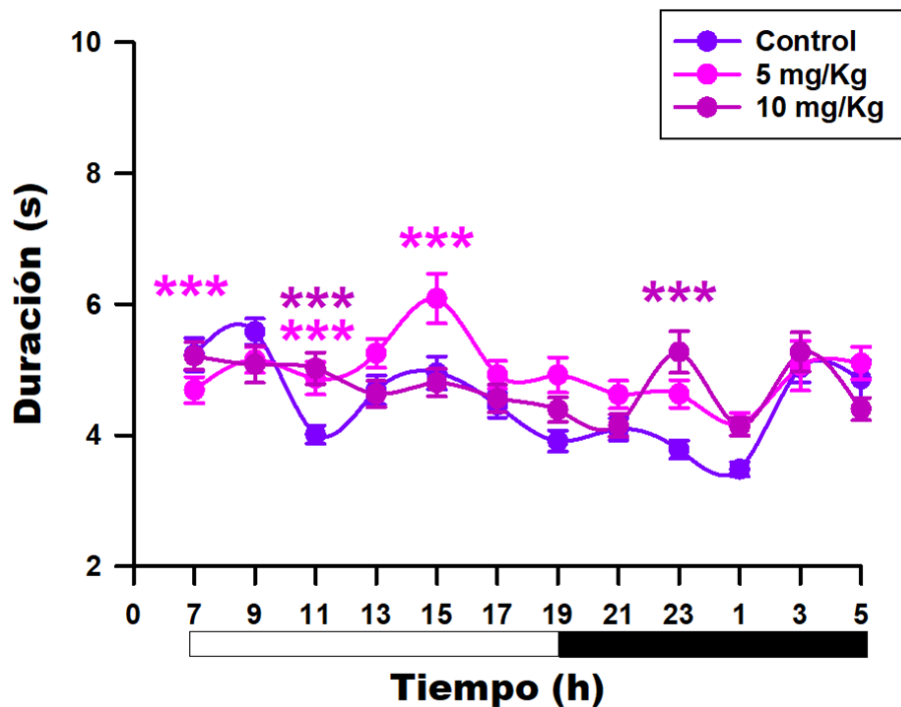
**Figura 11. Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* hembra ovariectomizadas.** Con los resultados de la administración del acetato de medroxiprogesterona en las dosis de 5 y 10 mg/Kg no se obtuvo diferencia significativa en la duración total a lo largo de un ciclo circadiano.

Al analizar la frecuencia durante el ciclo circadiano en épocas de 2 horas de duración, con la dosis de 5 mg/Kg del AMP, disminuyó significativamente la incidencia de las descargas espigas-onda a las 0100 horas en la fase oscura, tras 18 horas de su administración ( $F_{2,12} = 4.251, P = 0.04$ ) (Ver Figura 12).



**Figura 12. Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la frecuencia de las descargas espiga-onda en intervalos de 2 horas a lo largo de un ciclo circadiano.** La dosis de 5 mg/Kg de acetato de medroxiprogesterona disminuyó significativamente la incidencia de las descargas espiga-onda a las 0100 horas de la fase oscura ANOVA de medidas repetidas  $F_{2,12} = 4.251, * P < 0.05$ , seguido de la prueba de Dunnett \*\*\*  $P < 0.001$ . La barra bicolor en el eje horizontal muestra en color blanco la fase de luz y en color negro la fase oscura de un ciclo circadiano.

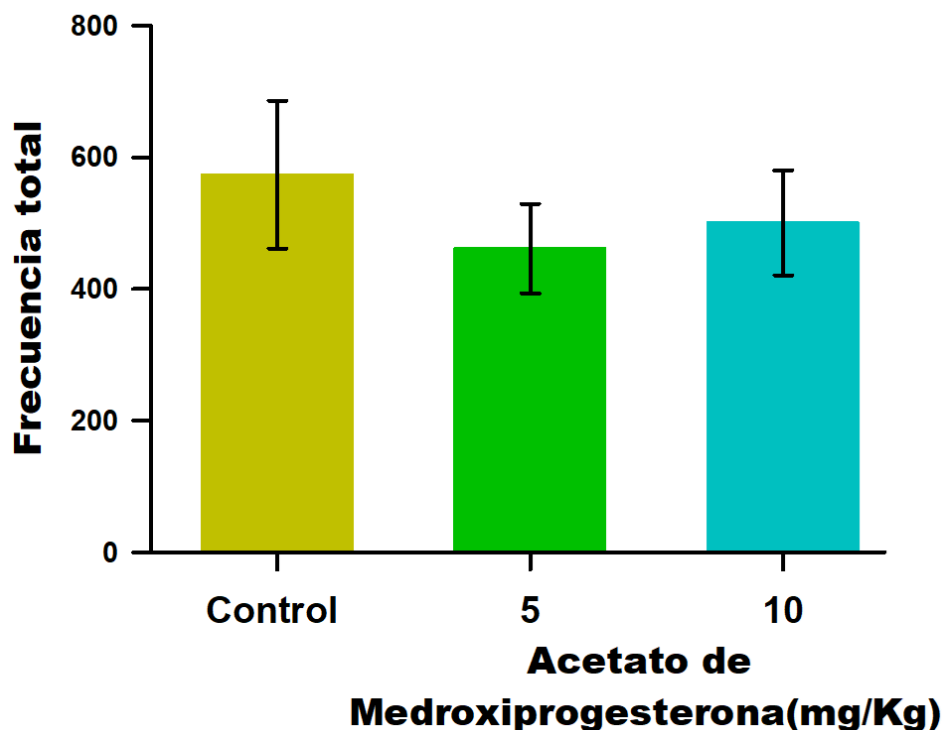
En el análisis de la duración de las descargas espiga-onda en épocas de 2 horas, la dosis de 5 mg/Kg disminuyó el tiempo de las descargas espiga-onda a las 0700 ( $F_{2,12} = 9.05, P = 0.000$ ), Sin embargo, en las siguientes horas esta dosis cambió su curso e incrementó la duración de las descargas espiga-onda siendo significativo a las 1100 horas ( $F_{2,12} = 9.05, P = 0.000$ ) y a las 1500 horas ( $F_{2,12} = 9.96, P = 0.00$ ). Con la dosis de 10 mg/Kg la duración de las descargas espiga-onda incrementó a las 1100 horas ( $F_{2,12} = 6.35, P = 0.000$  y 2300 horas ( $F_{2,12} = 7.88, P = 0.000$  (Ver Figura 13).



**Figura 13. Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la duración de las descargas espiga-onda en intervalos de 2 horas a lo largo de un ciclo circadiano.** La dosis de 5 mg/Kg disminuyó la duración en las primeras 2 horas de la administración del acetato de medroxiprogesterona (ANOVA de medidas repetidas  $F_{2,12} = 9.05$ ), y la aumentó a las 1100 horas (ANOVA de medidas repetidas  $F_{2,12} = 9.05$ ) y a las 1500 horas (ANOVA de medidas repetidas  $F_{2,12} = 9.96$ ). Con la dosis de 10 mg/Kg aumentó la duración a las 1100 horas (ANOVA de medidas repetidas  $F_{2,12} = 6.35$ ) y 2300 horas (ANOVA de medidas repetidas  $F_{2,12} = 7.88$ ) seguido de la prueba de Dunnett \*\*\*  $P < 0.0001$ . La barra bicolor en el eje horizontal muestra en color blanco la fase de luz y en color negro la fase oscura de un ciclo circadiano.

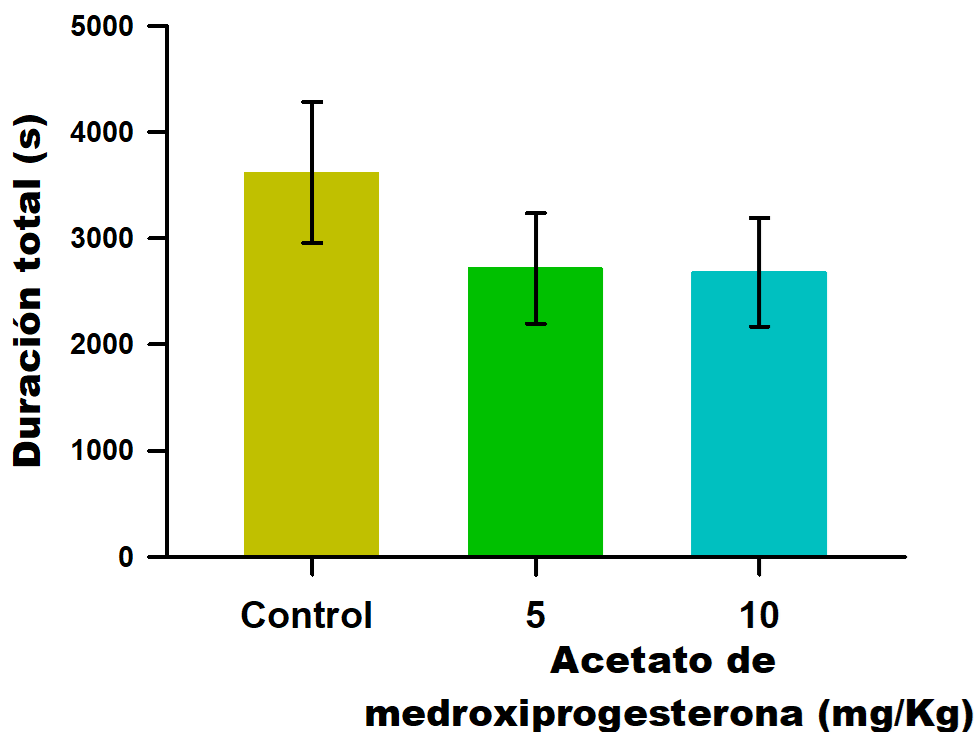
### **Machos *taiep*.**

En la suma total del número de las descargas espiga-onda en las ratas *taiep* machos en un ciclo circadiano, al igual que en el grupo de las hembras *taiep* ovariectomizadas, no se obtuvo diferencia significativa tras la administración del acetato de medroxiprogesterona (Figura 14).



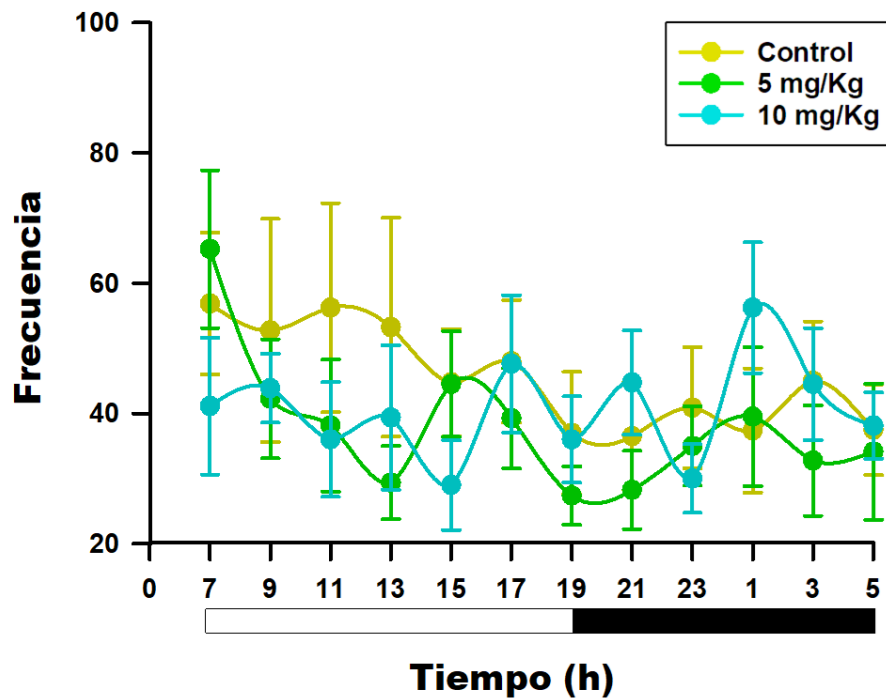
**Figura 14. Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* macho.** Los resultados de la administración del acetato de medroxiprogesterona tienden a disminuir la incidencia de las descargas espiga-onda a lo largo de un ciclo circadiano, sin embargo, ninguna dosis alcanzó significancia estadística.

La duración total de las descargas espigas-ondas en el grupo de los machos *taiep* con la administración del acetato de medroxiprogesterona, tiende a disminuir, pero no alcanzó diferencia significativa respecto al grupo control (Figura 15).



**Figura 15.** Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* macho. Los resultados de la administración del acetato de medroxiprogesterona con las dosis de 5 y 10 mg/Kg no se obtuvo diferencia significativa en la duración total de las descargas espiga-onda a lo largo de un ciclo circadiano.

En el análisis de la incidencia de las descargas espiga-onda en periodos de 2 horas a lo largo de un ciclo circadiano, no se obtuvo ningún valor significativo en ninguna hora del ciclo, cabe resaltar que, aunque la dosis de 5 mg/Kg no alcanzó significancia estadística, está dosis que permanece durante las 24 horas por debajo de la frecuencia del grupo control (Figura 16).



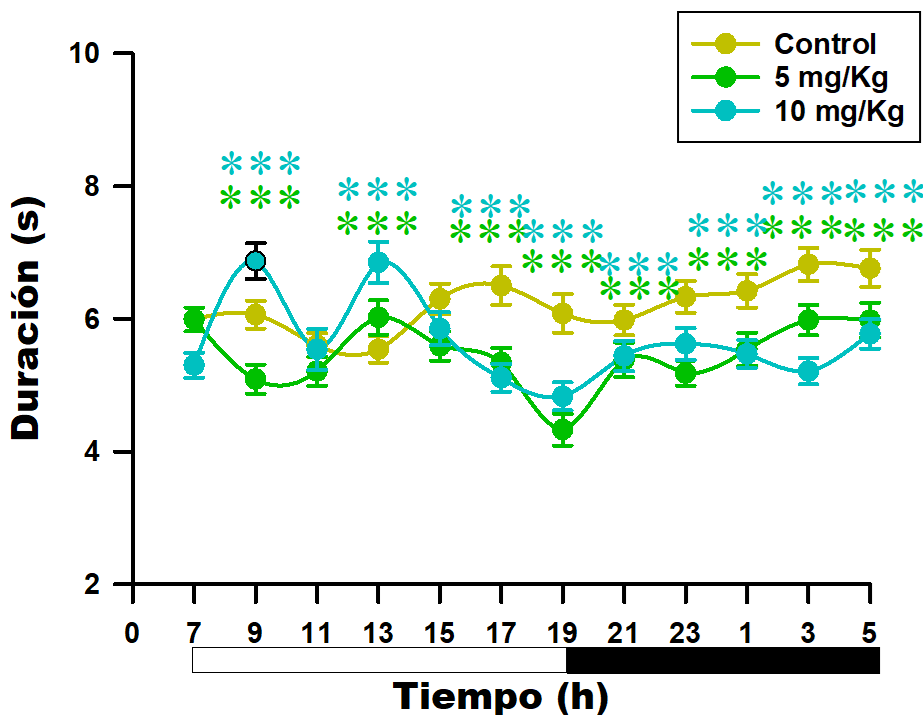
**Figura 16. Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la frecuencia de las descargas espiga-onda en intervalos de 2 horas a lo largo de un ciclo circadiano, en el grupo de machos *taiep*.** La dosis de 5 mg/Kg de acetato de medroxiprogesterona tiende a disminuir la incidencia a presentar las descargas espiga-onda, sin embargo, no es significativo. La barra bicolor en el eje horizontal muestra en color blanco la fase de luz y en color negro la fase oscura de un ciclo circadiano.

En la duración de las descargas espiga-onda en épocas de 2 horas, se obtuvo lo contrario al grupo experimental de las hembras *taiep*, ya que la duración disminuyó con ambas dosis y en las mismas horas (ver Tabla 8 y Figura 17).

**Tabla 8. Estadística de la comparación de la duración de las descargas espiga-onda entre el grupo control y las dosis de 5 y 10 mg/Kg.**

<b>Hora de inicio</b>	<b>Control</b>	<b>5 mg/Kg</b>	<b>10 mg/Kg</b>	<b>ANOVA de medidas repetidas</b>
<b>0700</b>	5.9 ± 0.18	5.99 ± 0.22	5.3 ± 0.19	$F_{(2,614)} = 0.982,$ $P = 0.375$
<b>0900</b>	6.06 ± 0.21	5.09 ± 0.26	6.87 ± 0.27	$F_{(2,418)} = 11.483,$ $P < 0.001$
<b>1100</b>	5.6 ± 0.18	5.21 ± 0.22	5.54 ± 0.31	$F_{(2,238)} = 1.559,$ $P = 0.212$
<b>1300</b>	5.54 ± 0.20	6.02 ± 0.26	6.85 ± 0.31	$F_{(2,614)} = 0.982,$ $P = 0.375$
<b>1500</b>	6.03 ± 0.23	5.59 ± 0.22	5.85 ± 0.25	$F_{(2,432)} = 4.7420,$ $P < 0.001$
<b>1700</b>	6.5 ± 0.29	5.34 ± 0.24	5.11 ± 0.21	$F_{(2,408)} = 10.646,$ $P < 0.001$
<b>1900</b>	6.08 ± 0.29	4.33 ± 0.24	4.83 ± 0.21	$F_{(2,274)} = 10.571,$ $P < 0.001$
<b>2100</b>	5.98 ± 0.29	5.38 ± 0.26	5.44 ± 0.23	$F_{(2,328)} = 9.708,$ $P < 0.001$
<b>2300</b>	6.33 ± 0.23	5.18 ± 0.19	5.62 ± 0.24	$F_{(2,304)} = 0.156,$ $P = 0.855$
<b>0100</b>	6.42 ± 0.25	5.54 ± 0.25	5.47 ± 0.21	$F_{(2,380)} = 2.187,$ $P=0.114$
<b>0300</b>	6.82 ± 0.25	5.98 ± 0.23	5.21 ± 0.20	$F_{(2,352)} = 13.015,$ $P < 0.001$
<b>0500</b>	6.76 ± 0.28	5.98 ± 0.26	5.77 ± 0.22	$F_{(2,352)} = 5.092,$ $P < 0.001$

Los datos representan la media ± el E.E.M.  
 En amarillo los valores de la fase de luz.  
 En gris los valores de la fase oscura.



**Figura 17. Efecto de la administración del acetato de medroxiprogesterona en la duración de las descargas espiga-onda en intervalos de 2 horas a lo largo de un ciclo circadiano.** La administración del acetato de medroxiprogesterona disminuyó significativamente la duración de las descargas espiga onda en horas específicas del ciclo circadiano, siendo la fase de oscuridad en la que obtuvo más valores significativos. (Se realizó ANOVA de medidas repetidas (ver Tabla 8), seguido de una prueba de Dunnett \*\*\* $P < 0.0001$ ). La barra bicolor en el eje horizontal muestra en color blanco la fase de luz y en color negro la fase oscura de un ciclo circadiano.

### **Resultados en la distribución circádica de la duración de las descargas espiga-onda en la rata *taiep***

El análisis Cosinor que es un método estadístico utilizado para evaluar la periodicidad de datos en series de tiempo, se ha usado especialmente en el estudio de son los ritmos biológicos como los ritmos circadianos. El análisis Cosinor ajusta una onda sinusoidal a los datos mediante el método de mínimos cuadrados (Cornelissen, 2014).

Los parámetros que se calculan en un análisis Cosinor son:

- Mesor (la media de las medias): esto es la mediana del ritmo, que representa el valor promedio de la variable a lo largo del ciclo de 24 horas.
- Amplitud: representa la magnitud de la variación de la variable a lo largo del ciclo circadiano, el pico de la onda desde el mesor.
- Acrofase: es el punto de tiempo en el que la onda alcanza su máximo, indicando el momento de mayor actividad o frecuencia del fenómeno estudiado (Anžel, Heider and Hattab, 2023).

En un análisis Cosinor se puede representar visualmente en graficas polares, las cuales representan las variables analizadas de la siguiente manera:

- Fase: representada en ángulos de  $0^{\circ}$  a  $360^{\circ}$ , indicando el momento en el tiempo en el que ocurre el pico máximo del ritmo circadiano, en este caso la duración de las descargas espiga-onda.
- Amplitud: es el radio, expresando la magnitud de la oscilación, a una amplitud mayor significa una mayor variación en el ritmo circádico (Cornelissen, 2014).

En el caso de las DEOs, el modelo Cosinor se utilizó para modelar la ritmicidad circádica en la que se representan las descargas espiga-onda. Los datos se alinearon a un lapso de 24 horas, periodo en el que se realizaron muestras de registros electroencefalográficos.

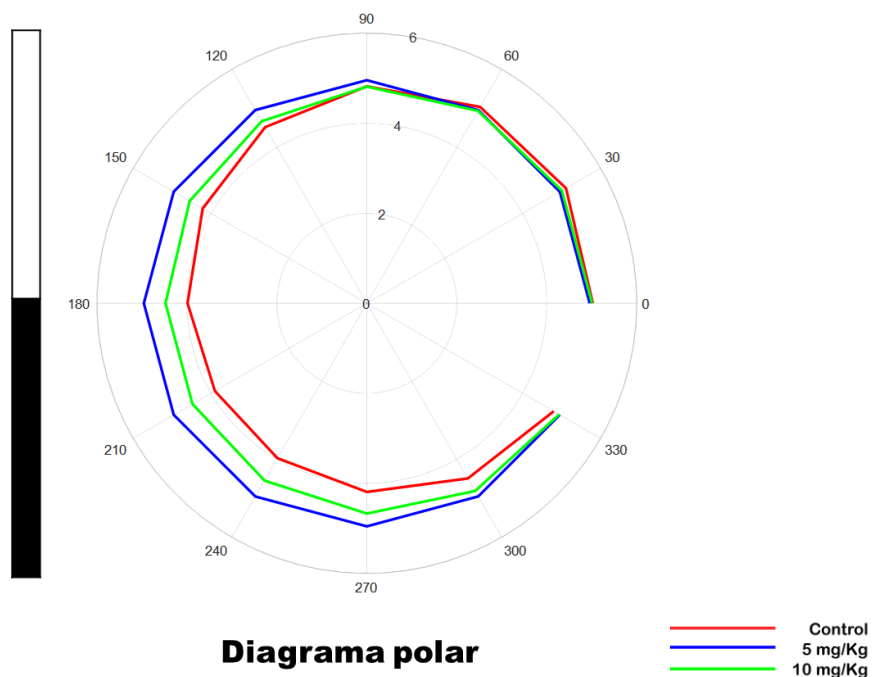
Análisis Cosinor en ratas hembra *taiep*.

El valor de las variables del análisis Cosinor en el grupo de las hembras *taiep* se muestra en la Tabla 8, mismas variables no mostraron diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla. 8. Valor de las variables del análisis COSINOR en el grupo de hembras *taiep*.**

	Mesor	Amplitud	Frecuencia	Fase
<b>Grupo control</b>	5.20	1.15	0.52	1.3716
<b>5 mg/Kg</b>	4.83	0.27	0.52	-0.6368
<b>10 mg/Kg</b>	5.06	0.53	0.52	1.3155

En el análisis polar del análisis COSINOR en el grupo de ratas hembra *taiep* se obtuvo que el registro control, representado en líneas rojas, con una amplitud menor a lo largo de todo el ciclo circadiano. En contraste, la administración de acetato de medroxiprogesterona con una dosis de 5 mg/Kg se obtuvo una mayor variación en el ritmo circadiano en comparación con el control. Aunque tanto el registro control como los registros experimentales exhiben un patrón similar en la fase, difirió en los valores de la amplitud, ya que la dosis de 10 mg/Kg obtuvo una menor variación con 0.53 en el ritmo circadiano respecto al control con 1.15.



**Figura 14. Ritmicidad de la duración de la descarga espiga-onda en ratas *taiep* hembras ovariectomizadas tras la administración del acetato de medroxiprogesterona. A) Diagrama polar que muestra la amplitud y la fase en la**

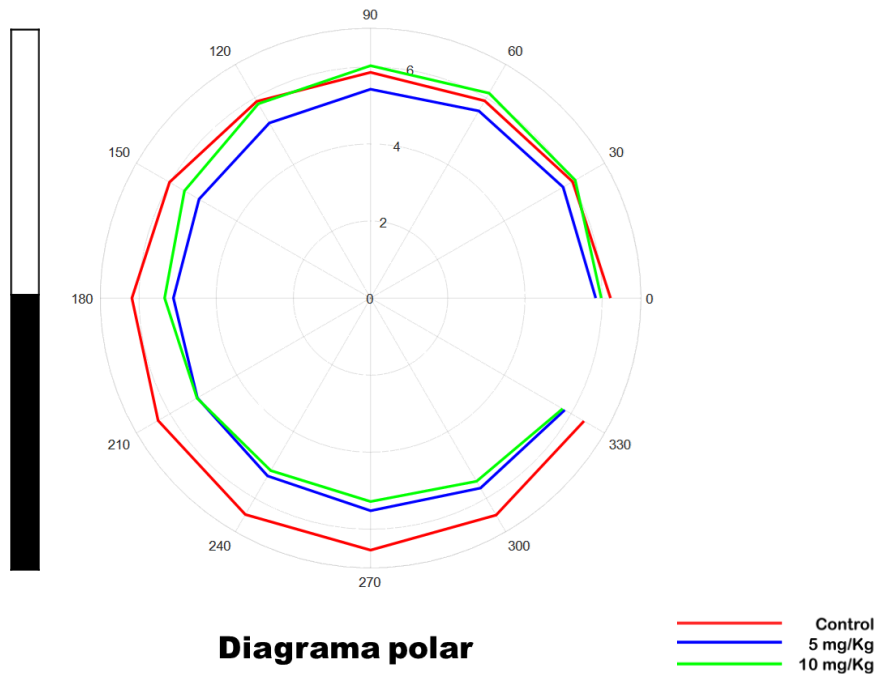
duración de las descargas espiga-onda en un periodo de 24 horas en formato de grados **B)** La grafica muestra la duración de las descargas espiga-onda durante 24 horas. La barra bicolor vertical muestra en blanco la fase de luz y en negro la fase oscura.

### **Análisis COSINOR en las ratas macho *taiep*.**

Las variables del análisis Cosinor para el grupo de ratas macho *taiep* los datos no mostraron diferencia estadística, véase la Tabla 9.

<b>Tabla. 9. Valor de las variables del análisis COSINOR en el grupo de machos <i>taiep</i>.</b>				
	<b>Mesor</b>	<b>Amplitud</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Fase</b>
<b>Grupo control</b>	6.15	0.52	0.52	-1.1494
<b>5 mg/Kg</b>	5.98	0.58	0.52	-0.9753
<b>10 mg/Kg</b>	5.63	0.52	0.52	-1.1904

La gráfica polar del análisis COSINOR en el grupo de ratas macho *taiep* muestra que el registro control, representado en líneas rojas, presenta una amplitud mayor a lo largo de todo el ciclo circadiano. En contraste, la administración de acetato de medroxiprogesterona con una dosis de 5 mg/Kg se obtuvo una menor variación en el ritmo circadiano en comparación con sus controles. Aunque tanto el registro control como en los registros experimentales exhiben un patrón similar en la fase, difieren en los valores de amplitud, siendo la dosis de 10 mg/Kg la que produjo una oscilación entre el registro control y la dosis de 5 mg/Kg.



**Figura 15. Ritmicidad de la duración de la descarga espiga-onda en ratas *taiep* macho tras la administración del acetato de medroxiprogesterona. A)** Diagrama polar que muestra la amplitud y la fase en la duración de las descargas espiga-onda en el periodo de 24 horas mostrado en grados. **B)** La duración de las descargas espiga-onda durante 24 horas. La barra bicolor vertical muestra en blanco la fase de luz y en negro la fase oscura.

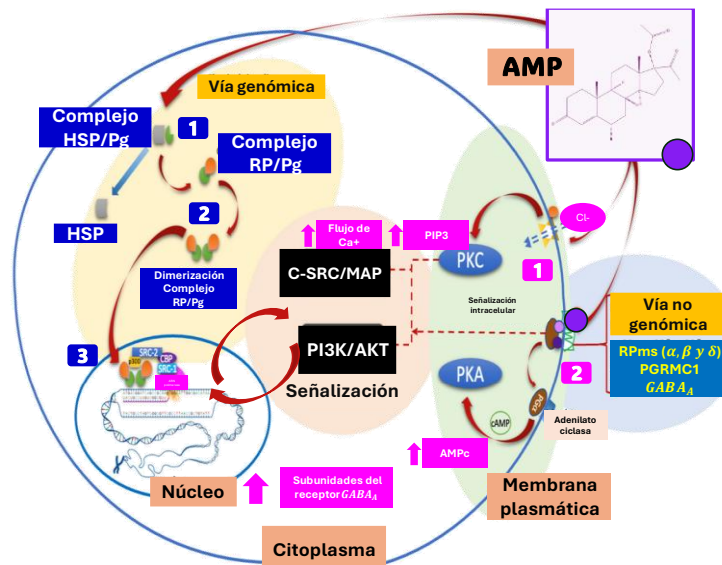
En resumen, el acetato de medroxiprogesterona afecta de manera diferencial el ritmo circadiano en ratas *taiep* según el sexo y la dosis, mientras que en las hembras la administración de la hormona aumentó la variación del ritmo, en los machos disminuyó la amplitud y por ende el ritmo circadiano.

## 9. Discusión.

**1. La administración de una progestina sintética de acción prolongada, como es el acetato de medroxiprogesterona tiene un efecto sobre el circuito tálamo-cortical que sustenta las descargas espiga-onda, el cual se presenta con un dimorfismo sexual.**

En el caso de las hembras *taiep* es posible que la administración del acetato de medroxiprogesterona favorezca la neurotransmisión GABAérgica en el núcleo reticular del tálamo, sitio que favorece el mantenimiento de las descargas espiga-onda (Adotevi *et al.*, 2021). Sin embargo, en el grupo de machos *taiep* el acetato de medroxiprogesterona disminuyó la duración de las descargas espiga-onda, debido a que, en este caso, el acetato de medroxiprogesterona no favorece la neurotransmisión GABAérgica.

Los posibles mecanismos por los cuales el acetato de medroxiprogesterona aumenta o disminuye la neurotransmisión GABAérgica, es a través de las mismas vías de señalización celular que activa la progesterona, que son las vías genómicas, las cuales estimulan la expresión de las distintas subunidades de los receptores  $GABA_A$ , así como las vías no genómicas, en las que el acetato de medroxiprogesterona es un modulador alostérico positivo de este receptor inhibitorio (Belelli y Herd, 2003; Louw-du Toit, Hapgood y Africander, 2014) véase la Figura 16.



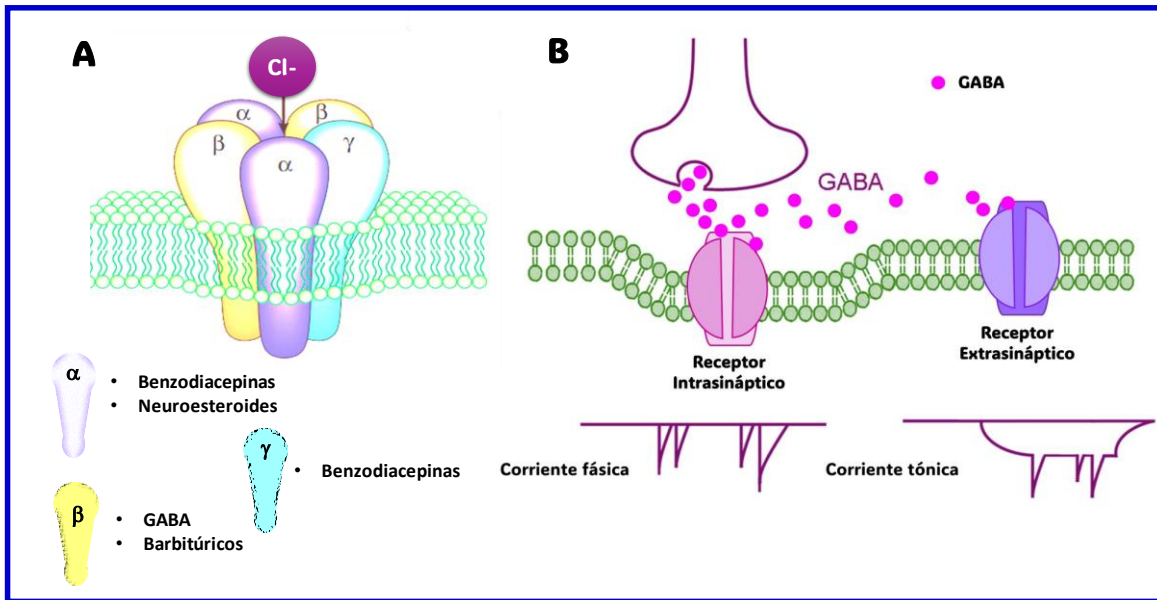
**Figura 16. Vías de señalización intracelular del acetato de medroxiprogesterona** (Simoncini et al., 2004). El acetato de medroxiprogesterona actúa a través del receptor de progesterona activando tanto vías genómicas como no genómicas. **Azul 1.** En la vía genómica, el AMP atraviesa la membrana celular y se une al receptor de progesterona inactivo en el citoplasma, generando un cambio conformacional en el receptor, liberando a la proteína de choque térmico (HSP90). **2.** La traslación del complejo hormona-receptor al núcleo. **3.** Se activa o reprime la transcripción celular. **Rosa. 1.** Se une al receptor  $GABA_A$  y permite la entrada de iones cloro. **2.** Se une al receptor RPms, que activa a proteínas G y se generan segundos mensajeros como el monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) y modifica el calcio intracelular y los mitógenos P13K/AKT y MAPK. **AMP:** acetato de medroxiprogesterona, **Pg:** progesterona, **HSP:** proteínas de choque térmico, **C-SRC:** tirosina cinasa no receptora, **MAPK:** familia de proteínas quinasas activadas por mitógenos, **P13K:** fosfatidilinositol 3-cinasa **AKT:** proteína cinasa B, **PKC:** proteína cinasa C, **PKA:** proteína cinasa A, **PIP3:** fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat, **RPms:** receptores de proteínas mitogénicas, **PGRMC1:** receptor de membrana asociado a la progesterona, **GABA<sub>A</sub>:** receptor de ácido gamma-aminobutírico tipo A.

El acetato de medroxiprogesterona, a través de la vía genómica, inhibe o activa enzimas clave en la transmisión GABAérgica, como es la enzima glutamato-

descarboxilasa (o GAD por sus siglas en inglés). Fue el grupo de investigación de Braden et al. 2012, quienes mostraron que la administración del acetato de medroxiprogesterona reduce la actividad de la enzima glutamato descarboxilasa en el hipocampo, pero lo aumenta en la corteza entorrinal en un grupo de ratas hembra ovariectomizadas (Braden et al., 2011).

En la rata *taiep* macho los andrógenos, principalmente la testosterona induce cambios en la organización en los circuitos hipotalámicos, tálamo-cortical y en el tallo cerebral y activa los circuitos cerebrales relacionados con la aparición de las descargas espiga-onda (Cortes et al., 2022). La administración de una progestina sintética, como es el acetato de medroxiprogesterona decrece la duración de las descargas espiga-onda en las ratas macho *taiep*. El AMP, interfiere con la señalización y/o metabolismo de los andrógenos, por ejemplo, se ha mostrado que la progesterona es un modulador negativo de la enzima  $17\alpha$ -hidroxilasa/17,20-liasa, la cual participa en la biosíntesis de los precursores de la testosterona en los testículos (Zirkin y Papadopoulos, 2018). También el acetato de medroxiprogesterona suprime la testosterona, al inhibir la secreción de la gonadotropina (Wu y John Aitken, 1989; Angus et al., 2021).

Como se mencionó por los mecanismos de la vía genómica, el acetato de medroxiprogesterona aumenta la neurotransmisión GABAérgica, a través de la síntesis de las distintas subunidades que conforman al receptor  $GABA_A$ . Los receptores  $GABA_A$  localizados en sitios postsinápticos en el cerebro están conformados principalmente por las subunidades  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$  y  $\gamma 2$ , donde se acoplan el neurotransmisor GABA a su receptor y permea la entrada de cloro, lo que conduce a una hiperpolarización de la membrana, y a este tipo de inhibición GABAérgica se le ha denominado como inhibición fásica (Ghit et al., 2021). Adicionalmente, las subunidades  $\gamma 2$ ,  $\alpha 4-6$ ,  $\beta 2$  y  $\delta$  corresponden a los receptores del tipo  $GABA_A$  que se localizan en sitios extrasinápticos, donde la baja concentración del neurotransmisor  $GABA_A$  abre estos receptores por un periodo más prolongado, por lo que a este tipo de inhibición se le denomina del tipo tónica, ya que es capaz de producir una hiperpolarización sostenida a largo plazo (Schipper et al., 2016) véase la figura 17.



**Figura 17. Estructura del receptor  $GABA_A$  y tipos de inhibición.** **A)** La estructura del receptor para  $GABA_A$  es un receptor ionotrópico que media la neurotransmisión inhibitoria en el sistema nervioso central. Está compuesto por cinco subunidades que forman un canal de cloro ( $Cl^-$ ) regulado por ligando. Los sustratos que se unen a las distintas subunidades de este receptor son las benzodiazepinas, los barbitúricos, los neuroesteroides y para el etanol, entre otros sustratos. **B)** Los receptores intrasinápticos generan una corriente inhibitoria tipo fásica y los receptores extrasinápticos generan una corriente tipo tónica (Belelli y Lambert, 2005).

Recientemente en el Laboratorio, se obtuvo que la administración de la alopregnanolona incrementó la duración de las descargas espiga-onda (Rojas Sánchez, *et al.*, 2024., sometido a consideración editorial). Los neuroesteroides, como es la alopregnanolona, han mostrado inducir la expresión de las subunidades  $\alpha_4$  y  $\delta$  en el hipocampo tras una exposición de dos a tres días, y concomitantemente que reducen la expresión de la subunidad  $\alpha_1$ , lo que favorece la inhibición del tipo tónica (Gulinello *et al.*, 2001; Shen *et al.*, 2005). Y esto podría ser el mecanismo que mantiene por más tiempo las descargas espiga-onda.

En el caso de la administración de la progesterona en las ratas *taiep* hembras ovariectomizadas, los resultados fueron dependientes de la dosis, ya que con la dosis de 10 mg/Kg disminuyó la frecuencia de las descargas espiga-onda, mientras que con la dosis de 50 mg/Kg y de 20 mg/Kg incrementaron la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda (Nagib Rame, *et al.*, 2021., sometido a consideración editorial). Son las subunidades  $\gamma 2$ ,  $\alpha 4$  y  $\delta$  del receptor  $GABA_A$  las que son moduladas por neuroesteroides, y es posible que con diferentes dosis de progesterona se modulen de una manera diferencial la expresión de las distintas subunidades del receptor  $GABA_A$ , lo que explicaría sus distintos efectos según la concentración de esta hormona en las respuestas neuronales durante el embarazo y a lo largo del ciclo estral como ha sido reportado en la rata WAG/Rij, un modelo que expresa las descargas espiga-onda (Van Luijtelaaar et al., 2014c).

Por otra parte, dado que existen las vías no genómicas, el acetato de medroxiprogesterona, también podría modular la inhibición GABAérgica por modulaciones al receptor  $GABA_A$ . En registros intracelulares se ha determinado que el acetato de medroxiprogesterona aumentó la amplitud corrientes inducidas por la administración de GABA, concluyendo que el AMP es un modulador positivo de este receptor al menos en el área preóptica hipotalámica (Das *et al.*, 2022).

## **2. La administración del acetato de medroxiprogesterona influye además en la duración de las descargas espiga-onda a lo largo del ciclo circadiano y es sexualmente dimórfico.**

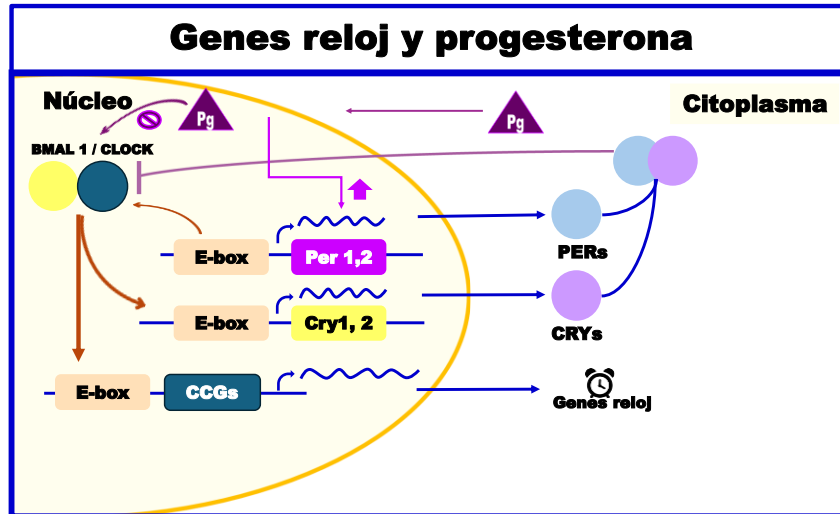
Los genes clave en la regulación del reloj biológico, son BMAL1 y CLOCK, que son moléculas que forman un heterodímero, estas a su vez se unen a las regiones promotoras E (E-box) de los genes diana y regulan positivamente su transcripción (Bailey y Silver, 2014). Los genes diana incluyen a los genes periodo Per1 y Per2 y a los criptocromos Cry1 y Cry2. Las proteínas PER y CRY transcritas y traducidas también forman un heterodímero, se translocan al núcleo y regulan negativamente la función del complejo BMAL1/CLOCK, esto por retroalimentación negativa véase Figura 17 (Fagiani *et al.*, 2022). La expresión de los genes controlados por el reloj

biológico, expresan proteínas relacionadas con el metabolismo, la inflamación, la homeostasis energética, y en el caso de las neuronas se asocia a ciclos circádicos en la neurotransmisión y la plasticidad neuronal (Flourakis *et al.*, 2015).

La progesterona puede alterar la expresión de los genes relacionados con el ritmo circadiano, principalmente afectando la expresión de los genes reloj (Bailey y Silver, 2014; Wang *et al.*, 2020). En el caso de las crisis de ausencia, se ha demostrado que las descargas espiga-onda muestran ritmo circadiano, con un pico en la frecuencia de las DEOs durante la fase oscura (Horita, Uchida y Maekawa, 1991).

En modelos animales de crisis de ausencia, como es la rata WAG/Rij, la duración de las descargas espiga-onda no varía entre las fases de luz y la oscura (Van Luijtelaar y Coenen, 1988b). En la rata GAERS el mayor número de las descargas espiga-onda se presentan durante la vigilia (Faradji *et al.*, 2000). En la rata *taiep*, la relación entre las etapas del ciclo sueño-vigilia y su asociación con las descargas espiga-onda, se obtuvo que una mayor frecuencia de las descargas espiga-onda durante la vigilia, pero existe una disminución significativa durante el sueño de ondas lentas o cuando las ratas se encontraban en sueño con movimientos oculares rápidos (Cortés y *et al.*, sometido a consideración editorial).

Nuestros resultados muestran que la administración del acetato de medroxiprogesterona, produjo incremento en la duración de las descargas espiga-onda respecto al registro control, lo que sugiere que la vía clásica de la progesterona y su ritmo circadiano, ambos mecanismos convergen en la excitabilidad neuronal, principalmente los que están relacionados con el sistema GABAérgico (Jiang *et al.*, 2022). Este aspecto resalta la importancia de considerar el tiempo en el que se administra el acetato de medroxiprogesterona para abordar en cómo actúa esta hormona sintética.



**Figura 18. Los Genes reloj y la progesterona.** A partir de nuestros resultados proponemos que el receptor de progesterona (Pg) a nivel de las proteínas BMAL1/CLOCK BMAL = Brain and Muscle ARNT-Like 1, CLOCK= Circadian Locomotor Output Cycles Kaput, E-box= región promotora E o 5'-CANNTG-3', Per = period, Cry = cryptochrome, CCGs = Clock-Controlled (Hastings, 1998; Nakamura et al., 2010; Mani and Oyola, 2012; Begemann et al., 2025).

En resumen, nuestros resultados soportan la necesidad de ahondar en el estudio del acetato de medroxiprogesterona y sus interacciones con factores como la modulación de receptores  $GABA_A$ , el ciclo circadiano y el dimorfismo sexual en los circuitos neuronales involucrados en la relación tálamo-cortical responsable de las descargas espiga-onda. Por lo que nuestros hallazgos contribuyen al entendimiento de las descargas espiga-onda y por tanto en las crisis de ausencia. Esto sugiere que factores hormonales y genéticos específicos para cada sexo, los cuales podrían modular la expresión de las descargas espiga-onda, lo cual es relevante para evaluar el impacto del acetato de medroxiprogesterona, o de la progesterona o de otras progestinas sintéticas.

## 10. Conclusiones.

- El acetato de medroxiprogesterona aumentó significativamente la duración de la descarga espiga-onda en las ratas *taiep* hembras ovariectomizadas.
- El acetato de medroxiprogesterona disminuyó significativamente la duración de la descarga espiga-onda en las ratas *taiep* macho.
- La administración de una progestina sintética de acción prolongada tiene un efecto sobre el circuito tálamo-cortical responsable de las descargas espiga-onda, el cual se presenta con un dimorfismo sexual.

## 10. Referencias.

- Adotevi, N., Su, A., Peiris, D., Hassan, M., y Leitch, B. (2021). Altered neurotransmitter expression in the corticothalamocortical network of an absence epilepsy model with impaired feedforward inhibition. *Neuroscience*, **467**, 73–80.
- Alata, M., González-Vega, A., Piazza, V., Kleinert-Altamirano, A., Cortes, C., Ahumada-Juárez, J. C., Eguibar, J. R., López-Juárez, A., y Hernandez, V. H. (2021). Longitudinal evaluation of cerebellar signs of H-ABC tubulinopathy in a patient and in the taiep model. *Frontiers in Neurology*, **12**, 702039.
- Angus, L. M., Nolan, B. J., Zajac, J. D., y Cheung, A. S. (2021). A systematic review of antiandrogens and feminization in transgender women. *Clinical Endocrinology*, **94**(6), 743–752.
- Anžel, A., Heider, D., y Hattab, G. (2023). Interactive polar diagrams for model comparison. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, **242**, 107843.
- Arsov, T., Mullen, S. A., Rogers, S., Phillips, A. M., Lawrence, K. M., Damiano, J. A., Goldberg-Stern, H., Afawi, Z., Kivity, S., Trager, C., Petrou, S., Berkovic, S. F., y Scheffer, I. E. (2012). Glucose transporter 1 deficiency in the idiopathic generalized epilepsies. *Annals of Neurology*, **72**(6), 807–815.
- Asadi-Pooya, A. A., y Farazdaghi, M. (2022). Childhood vs. juvenile absence epilepsy: How to make a diagnosis. *Seizure - European Journal of Epilepsy*, **102**, 125–128.
- Atlas of Electroencephalography. (1941). *JAMA*, **117**(3), 233.
- Atli, E., Heider, D., y Hattab, G. (2023). Investigation of the genetic etiology in idiopathic generalized epileptic disorders by targeted next-generation sequencing technique. *Balkan Medical Journal*, **40**(1), 13–20.
- Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A. S., y White, L. E. (2010). *Neurociencia*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Bailey, M., y Silver, R. (2014). Sex differences in circadian timing systems: Implications for disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **35**(1), 111–139.

Basso, M.A., Uhrich, D. y Bickford, M.E. (2005). Cortical function: A view from the thalamus. *Neuron*, 45: 485-488. Disponible en:

Beckinghausen, J., Nejad, M.S., Camuñas-Mesa, L., Kros, L. y De Zeeuw, C.I. (2023). The cerebellum contributes to generalized seizures by altering activity in the ventral posteromedial nucleus. *Communications Biology*, 6: 731.

Belelli, D. y Herd, M.B. (2003). The contraceptive agent Provera enhances GABAA receptor-mediated inhibitory neurotransmission in the rat hippocampus: Evidence for endogenous neurosteroids? *The Journal of Neuroscience*, 23: 10013-10020.

Belelli, D. y Lambert, J.J. (2005). Neurosteroids: endogenous regulators of the GABAA receptor. *Nature Reviews Neuroscience*, 6: 565-575.

Biesbroek, J.M., Van Ruitenbeek, S., Kuijf, H.J., Silva, C. y Biessels, G.J. (2024). When the central integrator disintegrates: A review of the role of the thalamus in cognition and dementia. *Alzheimer's & Dementia*, 20: 2209-2222.

Braden, B.B., Garcia, A.N., Zhang, Q. y McCarthy, M.M. (2011). Cognitive-impairing effects of medroxyprogesterone acetate in the rat: independent and interactive effects across time. *Psychopharmacology*, 218: 405-418.

Brigo, F., Igwe, S.C., Ausserer, H. y Nardone, R. (2018). A brief history of typical absence seizures — Petit mal revisited. *Epilepsy & Behavior*, 80: 346-353..

Brigo, F., Igwe, S.C. y Lattanzi, S. (2019). Ethosuximide, sodium valproate or lamotrigine for absence seizures in children and adolescents. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2019(2): CD003032.

Bunke, B. (1972). Chemical and pharmacological aspects of medroxy-progesterone-acetate. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 51(S19): 13-14.

Burgess, D.L., Rhodes, T.H., Estacion, M. y otros. (s.f.). Mutation of the Ca<sup>2+</sup> Channel  $\beta$  Subunit Gene Cchb4 Is Associated with Ataxia and Seizures in the Lethargic (lh) Mouse.

- Carlson, C., Lorio, L., Reilly, M., y otros. (2014). Sex differences in seizure types and symptoms. *Epilepsy & Behavior*, **41**: 103-108.
- Cortés, C., Fernández, J., González, P. y otros. (2022). Testicular androgens determining the incidence of spike-wave discharges in taiep rats: A model of H-ABC leukodystrophy. *Neuroscience Letters*, **782**: 136684.
- Chang, B., Zhang, L., Yang, Z. y otros. (2022). Deletion of Phospholipase C  $\beta$ 1 in the Thalamic Reticular Nucleus Induces Absence Seizures. *Experimental Neurobiology*, **31**(2): 116.
- Chen, Y., Parker, W.D. y Wang, K. (2014). The Role of T-Type Calcium Channel Genes in Absence Seizures. *Frontiers in Neurology*, **5**.
- Cheong, E. y Shin, H.-S. (2013). T-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels in absence epilepsy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, **1828**(7): 1560-1571.
- Christensen, J., Vestergaard, M., Pedersen, M.G., y otros. (2005). Gender Differences in Epilepsy. *Epilepsia*, **46**(6): 956-960.
- Christian, C.A., Lothman, E.W., Li, Z., y otros. (2020a). Sex Differences in the Epilepsies and Associated Comorbidities: Implications for Use and Development of Pharmacotherapies. *Pharmacological Reviews*, **72**(4): 767-800.
- Christian, C.A., Lothman, E.W., Li, Z., y otros. (2020b). Sex Differences in the Epilepsies and Associated Comorbidities: Implications for Use and Development of Pharmacotherapies. *Pharmacological Reviews*, **72**(4): 767-800.
- Ciclo sexual femenino (2024). *Wikipedia, la enciclopedia libre*. Disponible en: [https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Ciclo\\_sexual\\_femenino&oldid=162616569](https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Ciclo_sexual_femenino&oldid=162616569) (Consultado el 18 de noviembre de 2024).
- Cornelissen, G. (2014). Cosinor-based rhythmometry. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, **11**(1): 16.

- Cortés, M.D.C., Sánchez, C., Valdés, M., y otros. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on taiep rats. *Synapse*, **58**(2): 95-101.
- Cortez, M.A., Cunnane, S.C. y Snead III, O.C. (2002). Brain Sterols in the AY-9944 Rat Model of Atypical Absence Seizures. *Epilepsia*, **43**(1): 3-8.
- Cortez, M.A., Kostopoulos, G.K. y Snead, O.C. (2016). Acute and chronic pharmacological models of generalized absence seizures. *Journal of Neuroscience Methods*, **260**: 175-184.
- Crunelli, V., Huguenard, J.R., Leresche, N., y otros. (2023). HCN channels and absence seizures. *Neurobiology of Disease*, **181**: 106107.
- Crunelli, V. y Leresche, N. (2002). Childhood absence epilepsy: Genes, channels, neurons and networks. *Nature Reviews Neuroscience*, **3**(5): 371-382.
- Das, R., Bhagat, K., Jain, S. y otros. (2022). Medroxyprogesterone acetate positively modulates specific GABAA-receptor subtypes - affecting memory and cognition. *Psychoneuroendocrinology*, **141**: 105754.
- Del Pilar Guerrero Ruiz, G. (2023). [Idiopathic generalized epilepsies]. *Medicina*, **83** Suppl 4: 69-75.
- Djoumbou-Feunang, Y., Smirnov, P., Le, D., y otros. (2019). BioTransformer: a comprehensive computational tool for small molecule metabolism prediction and metabolite identification. *Journal of Cheminformatics*, **11**(1): 2.
- Dong, M., Zheng, C., Zhang, Z., y otros. (2022). Genotype and phenotype spectrum of 10 children with STXBP1 gene-related encephalopathy and epilepsy. *Frontiers in Pediatrics*, **10**: 1010886..
- Doose, H. (1992). Myoclonic-astatic epilepsy. *Epilepsy Research. Supplement*, **6**: 163-168.
- Eguibar, J.R. (2010). El mutante de mielina taiep como un modelo de crisis de ausencia. **146**(1).

Eguibar, J.R., Rodríguez, M. y colaboradores. (2024a). 4-aminopyridine improves evoked potentials and ambulation in the taiep rat: A model of hypomyelination with atrophy of basal ganglia and cerebellum. *PLOS ONE*, **19**(3).

Eguibar, J.R., Rodríguez, M. y colaboradores. (2024b). 4-aminopyridine improves evoked potentials and ambulation in the taiep rat: A model of hypomyelination with atrophy of basal ganglia and cerebellum. *PLOS ONE*. Editado por N. Mahdieh, **19**(3): e0298208..

Es, F. (2015). Investigation of ECG Changes in Absence Epilepsy on WAG/ Rij Rats. **Volume**, **6**(2).

Etienne, M.C., Bertrand, J., Coudert, J., y otros. (1992). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of medroxyprogesterone acetate in advanced breast cancer patients. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, **10**(7): 1176-1182.

Ey, H. (1953). L'homme épileptique (extrait du tome III des Etudes Psychiatriques). *Bulletin de psychologie*, **7**(1): 26-31.

Fagiani, F., Di Matteo, V., y otros. (2022). Molecular regulations of circadian rhythm and implications for physiology and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **7**(1): 41..

Faradji, H., Amrani, M., y otros. (2000). Sleep and Epilepsy: A Key Role for Nitric Oxide?. *Epilepsia*, **41**(7): 794-801.

Fisher, R.S., Cross, J.H., y otros. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, **58**(4): 522-530..

Flourakis, M., Macedo, E., y otros. (2015). A Conserved Bicycle Model for Circadian Clock Control of Membrane Excitability. *Cell*, **162**(4): 836-848.

Fotherby, K. (1996). Bioavailability of orally administered sex steroids used in oral contraception and hormone replacement therapy. *Contraception*, **54**(2): 59-69..

Futatsugi, Y. y Riviello Jr, J.J. (1998). Mechanisms of generalized absence epilepsy. *Brain and Development*, **20**(2): 75-79.

Garduno-Robles, A., Pérez-Garza, J., y otros. (2020). MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Frontiers in Neuroscience*, **14**: 555.

Ghit, A., Kumar, A., y otros. (2021). GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, **19**: 123.

Glauser, T.A., Shields, W.D., y otros. (2010). Ethosuximide, Valproic Acid, and Lamotrigine in Childhood Absence Epilepsy. *New England Journal of Medicine*, **362**(9): 790-799.

González-Flores, O., Rodríguez, A., y otros. (2024). Cellular and molecular mechanisms of action of ovarian steroid hormones. I: Regulation of central nervous system function. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, p. 105937.

Goodman, G. (2006). *Goodman y Gilman Las bases farmacológicas de la Terapéutica* 11a ed. (345-356)

Gregorčič, S., Zupan, M., y otros. (2022). Difficult to treat absence seizures in children: A single-center retrospective study. *Frontiers in Neurology*, **13**: 958369.

Grensemann, H. (1968). *Die Hippokratische Schrift Über Die Heilige Krankheit*. Walter de Gruyter.

Griffin, R.L. (2024). The Association between Medroxyprogesterone Acetate Exposure and Meningioma. *Cancers*, **16**(19): 3362.

Grünewald, R.A., Aliberti, V., y Panayiotopoulos, C.P. (1992). Exacerbation of typical absence seizures by progesterone. *Seizure*, **1**(2): 137-138.

Gulinello, M., Thomas, A., y otros. (2001). Short-term exposure to a neuroactive steroid increases  $\alpha 4$  GABAA receptor subunit levels in association with increased anxiety in the female rat. *Brain Research*, **910**(1-2): 55-66.

- Halassa, M.M. y Sherman, S.M. (2019). Thalamocortical Circuit Motifs: A General Framework. *Neuron*, **103**(5): 762-770.
- Hauser, W.A., Annegers, J.F. y Kurland, L.T. (1993). Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984. *Epilepsia*, **34**(3): 453-468.
- Herman, S.T., Walczak, T.S. y Bazil, C.W. (2001). Distribution of partial seizures during the sleep-wake cycle: Differences by seizure onset site. *Neurology*, **56**(11): 1453-1459.
- Herzog, A.G. (1995a). Progesterone therapy in women with complex partial and secondary generalized seizures. *Neurology*, **45**(9): 1660-1662.
- Herzog, A.G. (1995b). Progesterone therapy in women with complex partial and secondary generalized seizures. *Neurology*, **45**(9): 1660-1662.
- Herzog, A.G. (2008). Catamenial epilepsy: Definition, prevalence pathophysiology and treatment. *Seizure*, **17**(2): 151-159.
- Holmgren, B., Nilsson, C., y otros. (1989). Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Laboratory Animal Science*, **39**(3): 226-228.
- Horita, H., Uchida, E. y Maekawa, K. (1991). Circadian rhythm of regular spike-wave discharges in childhood absence epilepsy. *Brain and Development*, **13**(3): 200-202.
- Jafarian, M., Esmail Alipour, M. y Karimzadeh, F. (2020). Experimental Models of Absence Epilepsy. *Basic and Clinical Neuroscience Journal*, **11**(6): 715-726.
- Jiang, Y., Liu, Y., y otros. (2022). Critical Roles of the Circadian Transcription Factor BMAL1 in Reproductive Endocrinology and Fertility. *Frontiers in Endocrinology*, **13**: 818272.
- Kammerman, S. (2001). Seizure disorders: Part 1. Classification and diagnosis. *Western Journal of Medicine*, **175**(2): 99-103.

Kapur, J. y Joshi, S. (2021a). Progesterone modulates neuronal excitability bidirectionally. *Neuroscience Letters*, **744**: 135619.

Kapur, J. y Joshi, S. (2021b). Progesterone Modulates Neuronal Excitability Bidirectionally. *Neuroscience Letters*, **744**: 135619.

Kessler, S.K. and McGinnis, E. (2019) 'A Practical Guide to Treatment of Childhood Absence Epilepsy', *Pediatric Drugs*, **21**(1), pp. 15–24.

Kim, T.Y. et al. (2015) 'Absence-like seizures and their pharmacological profile in tottering-6j mice', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **463**(1–2), pp. 148–153.

Kleveland, G. and Engelsen, B.A. (1998) 'Juvenile myoclonic epilepsy: clinical characteristics, treatment and prognosis in a Norwegian population of patients', *Seizure*, **7**(1), pp. 31–38.

Krogsgaard-Larsen, P. et al. (1983) '4,5,6,7-Tetrahydroisothiazolo[5,4-c]pyridin-3-ol and related analogs of THIP. Synthesis and biological activity', *Journal of Medicinal Chemistry*, **26**(6), pp. 895–900.

Lee, Y., Field, J.M. and Sehgal, A. (2021) 'Circadian Rhythms, Disease and Chronotherapy', *Journal of Biological Rhythms*, **36**(6), pp. 503–531.

Leitch, B. (2022a) 'The Impact of Glutamatergic Synapse Dysfunction in the Corticothalamocortical Network on Absence Seizure Generation', *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **15**, p. 836255.

Leitch, B. (2022b) 'The Impact of Glutamatergic Synapse Dysfunction in the Corticothalamocortical Network on Absence Seizure Generation', *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **15**, p. 836255.

Lentini, E. et al. (2013) 'Sex Differences in the Human Brain and the Impact of Sex Chromosomes and Sex Hormones', *Cerebral Cortex*, **23**(10), pp. 2322–2336.

Lopez-Juarez, A. et al. (2021) 'Auditory impairment in H-ABC tubulinopathy', *Journal of Comparative Neurology*, **529**(5), pp. 957–968.

Louw-du Toit, R., Hapgood, J.P. and Africander, D. (2014) 'Medroxyprogesterone Acetate Differentially Regulates Interleukin (IL)-12 and IL-10 in a Human Ectocervical Epithelial Cell Line in a Glucocorticoid Receptor (GR)-dependent Manner', *The Journal of Biological Chemistry*, **289**(45), pp. 31136–31149.

Sanabria Sanchinel, A.A. et al. (2017) 'Estado epiléptico de ausencia en ancianos con epilepsia generalizada idiopática', *Neurología Argentina*, **9**(3), pp. 186–190.

Sander, T. et al. (2009) 'Linkage analysis between idiopathic generalized epilepsies and the GABAA receptor  $\alpha 5$ ,  $\beta 3$  and  $\gamma 3$  subunit gene cluster on chromosome 15', *Acta Neurologica Scandinavica*, **96**(1), pp. 1–7.

Savic, I. (2014) 'Sex differences in human epilepsy', *Experimental Neurology*, **259**, pp. 38–43.

Scheffer, I.E. et al. (2017) 'ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology', *Epilepsia*, **58**(4), pp. 512–521.

Schep, L.J. et al. (2012) 'The clinical toxicology of gamma-hydroxybutyrate, gamma-butyrolactone and 1,4-butanediol', *Clinical Toxicology*, **50**(6), pp. 458–470.

Schipper, S. et al. (2016) 'Tonic GABAA Receptors as Potential Target for the Treatment of Temporal Lobe Epilepsy', *Molecular Neurobiology*, **53**(8), pp. 5252–5265.

Serbanescu, I. et al. (2004) 'Refractory atypical absence seizures in rat: a two hit model', *Epilepsy Research*, **62**(1), pp. 53–63.

Shaw, F.-Z. (2004) 'Is Spontaneous High-Voltage Rhythmic Spike Discharge in Long Evans Rats an Absence-Like Seizure Activity?', *Journal of Neurophysiology*, **91**(1), pp. 63–77.

Shen, H. et al. (2005) 'Short-term steroid treatment increases  $\delta$  GABAA receptor subunit expression in rat CA1 hippocampus: Pharmacological and behavioral effects', *Neuropharmacology*, **49**(5), pp. 573–586.

- Sherman, S.M. and Guillery, R.W. (2011) 'Distinct functions for direct and transthalamic corticocortical connections', *Journal of Neurophysiology*, **106**(3), pp. 1068–1077.
- Simoncini, T. et al. (2004) 'Differential Signal Transduction of Progesterone and Medroxyprogesterone Acetate in Human Endothelial Cells', *Endocrinology*, **145**(12), pp. 5745–5756.
- Smith, S.S. et al. (2007) 'Neurosteroid regulation of GABAA receptors: Focus on the  $\alpha 4$  and  $\delta$  subunits', *Pharmacology & Therapeutics*, **116**(1), pp. 58–76.
- Smyk, M.K. and Van Luijtelaar, G. (2020a) 'Circadian Rhythms and Epilepsy: A Suitable Case for Absence Epilepsy', *Frontiers in Neurology*, **11**, p. 245.
- Snead, O.C. et al. (2000) 'Modulation of Absence Seizures by the GABAA Receptor: A Critical Role for Metabotropic Glutamate Receptor 4 (mGluR4)', *The Journal of Neuroscience*, **20**(16), pp. 6218–6224.
- Somerville, E.R. (2009) 'Some treatments cause seizure aggravation in idiopathic epilepsies (especially absence epilepsy)', *Epilepsia*, **50**(s8), pp. 31–36.
- Stafstrom, C.E. and Carmant, L. (2015) 'Seizures and Epilepsy: An Overview for Neuroscientists', *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **5**(6), pp. a022426–a022426.
- Steinlein, O.K. et al. (1999) 'The voltage gated potassium channel KCNQ2 and idiopathic generalized epilepsy', *NeuroReport*, **10**(6), p. 1163.
- Sundqvist, A. (1990) 'Juvenile myoclonic epilepsy: Events before diagnosis', *Journal of Epilepsy*, **3**(4), pp. 189–192.
- Tang, F.R., Loke, W.K. and Khoo, B.C. (2017) 'Low-dose or low-dose-rate ionizing radiation-induced bioeffects in animal models', *Journal of Radiation Research*, **58**(2), pp. 165–182.

Terunuma, M. (2018) 'Diversity of structure and function of GABAB receptors: a complexity of GABAB-mediated signaling', *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, **94**(10), pp. 390–411.

Timic Stamenic, T. and Todorovic, S.M. (2022) 'Thalamic T-Type Calcium Channels as Targets for Hypnotics and General Anesthetics', *International Journal of Molecular Sciences*, **23**(4), p. 2349.

Tolmacheva, E.A. et al. (2004) 'Absence seizures during pregnancy in WAG/Rij rats', *Physiology & Behavior*, **81**(4), pp. 623–627.

Tolmacheva, E.A. and van Luijtelaar, G. (2007) 'The role of ovarian steroid hormones in the regulation of basal and stress induced absence seizures', *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **104**(3), pp. 281–288.

Tolmacheva, E.A. and Van Luijtelaar, G. (2007) 'Absence seizures are reduced by the enhancement of GABA-ergic inhibition in the hippocampus in WAG/Rij rats', *Neuroscience Letters*, **416**(1), pp. 17–21.

Touret, M. et al. (2007) 'Glutamatergic alterations in the cortex of genetic absence epilepsy rats', *BMC Neuroscience*, **8**(1), p. 69.

Van Luijtelaar, E.L.J.M. and Coenen, A.M.L. (1988a) 'Circadian rhythmicity in absence epilepsy in rats', *Epilepsy Research*, **2**(5), pp. 331–336.

Van Luijtelaar, G., Onat, F.Y. and Gallagher, M.J. (2014) 'Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter?', *Neurobiology of Disease*, **72**, pp. 167–179.

Vienne, J. et al. (2010) 'Differential Effects of GABAB Receptor Subtypes,  $\gamma$ -Hydroxybutyric Acid, and Baclofen on EEG Activity and Sleep Regulation', *The Journal of Neuroscience*, **30**(42), pp. 14194–14204.

Wang, P. et al. (2020) 'Progesterone affects the transcription of genes in the circadian rhythm signaling and hypothalamic-pituitary-gonadal axes and changes the sex ratio in crucian carp (*Carassius auratus*)', *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **77**, p. 103378.

Wang, Z. and Wang, Q. (2017) 'Eliminating Absence Seizures through the Deep Brain Stimulation to Thalamus Reticular Nucleus', *Frontiers in Computational Neuroscience*, **11**.

Wenger, O. (2008) 'Geschichte der Epilepsie; pp. 163–190: Ein Rückblick auf vier Jahrtausende', *Monatsschrift für Psychiatrie und Neurologie*, **106**(2–4), pp. 163–190.

Wu, F.C.W. and John Aitken, R. (1989) 'Suppression of sperm function by depot medroxyprogesterone acetate and testosterone enanthate in steroid male contraception\*†', *Fertility and Sterility*, **51**(4), pp. 691–698.

Yildiz, O.K. et al. (2011) 'Ovariectomy enhances spike-wave discharges in WAG/Rij rats', *Neurology, Psychiatry and Brain Research*, **17**(3), pp. 67–70.

Zarowski, M. et al. (2011) 'Circadian distribution and sleep/wake patterns of generalized seizures in children', *Epilepsia*, **52**(6), pp. 1076–1083.

Zimmerman, A.W. et al. (1973) 'Medroxyprogesterone acetate in the treatment of seizures associated with menstruation', *The Journal of Pediatrics*, **83**(6), pp. 959–963.

Zirkin, B.R. and Papadopoulos, V. (2018) 'Leydig cells: formation, function, and regulation†', *Biology of Reproduction*, **99**(1), pp. 101–111.