



# BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA  
LABORATORIO DE NEUROFISIOLÓGÍA DE LA CONDUCTA Y  
CONTROL MOTOR

## Participación del núcleo reticular talámico en la generación de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* adultas

Tesis para obtener el grado de:  
DOCTORADO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Presenta:

M. en C. Juan Manuel Ibarra Hernández

Directores de tesis:

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Heroica Puebla de Zaragoza, México a 3 de noviembre de 2022



“La posibilidad de que algunos pacientes desarrollen fenotipos más severos (por ejemplo, déficits cognitivos, epilepsia de ausencia de remisión) y la necesidad de comprender mejor los mecanismos de las funciones cerebrales asociadas (por ejemplo, la conciencia) hacen que el estudio de la epilepsia de ausencia sea bastante relevante. Los modelos genéticos ofrecen la oportunidad única de estudiar individuos con una historia natural cercana a las situaciones clínicas y, por lo tanto, brindan las condiciones ideales para comprender la fisiopatología de la epilepsia de ausencia humana y su evolución a lo largo de la vida.”

-Depaulis y Charpier; Pathophysiology of absence epilepsy: Insights from genetic models; 2017

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca con número 735813 otorgada para la realización de mis estudios de Doctorado en Ciencias Fisiológicas, PNPC-CONACyT.

A los proyectos de investigación con número COSM-SAL-17-I de la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla a favor de la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez.

A los proyectos CONACyT de Ciencia Básica con números 243,247 y 243,333 a favor del Dr. José Ramón Eguibar Cuenca y la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez, respectivamente. Y al apoyo de los Programas Nacionales Estratégicos del CONACyT (PRONACES-CONACyT) con número 194171.

Al apoyo recibido por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Subsecretaría de Educación Superior – Secretaría de Educación Pública (SES-SEP) para el cuerpo académico consolidado en Neuroendocrinología, BUAP-CA-288.

Agradezco al jurado de examen: la Dra. Sandra Orozco, la Dra. Manola Cuéllar, el Dr. Elías Manjarrez y el Dr. Emilio Salceda por las observaciones y contribuciones realizadas a la tesis y mi formación en esta área de la investigación experimental.

Gracias al Dr. Eduardo Monjaraz y a la Dra. Karina Ruiseco por su apoyo y enseñanza para realizar la inmunodetección por Western-Blot.

A mis padres Diana Hernández y Manuel Ibarra y toda mi familia y amistades: Norma, Tello, Richie y Luz por su apoyo y comprensión en esta nueva aventura y etapa de crecimiento personal y laboral.

Al Dr. Francisco Guzmán por enseñarme lo grandioso de esta maravillosa profesión y estilo de vida. Y a Marlene Perales por su motivación, apoyo y enseñanza!

Al Dr. José Ramón Eguibar y la Dra. Carmen Cortés por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en el Laboratorio de Neurofisiología de Conducta y Control Motor, por depositar su confianza en mi trabajo, por su dedicación en formarme en esta labor y sobre todo por enseñarme lo que es la disciplina y el rigor científico, dos valores necesarios para lograr ser un gran investigador. ¡Que las enseñanzas nunca terminen!

Muchas gracias a los integrantes del Laboratorio de Neurofisiología de Conducta y Control Motor: a la M.C. Aracely Ugarte y al M.V.Z. Omar Isidro por el cuidado y mantenimiento de los animales de laboratorio. A mis compañeros: Lily, Adriela, Juan Carlos, Rubén, Salvador, Adriana, Karely y Alfonso por su amistad y apoyo.

Durante la realización del presente proyecto se publicaron los siguientes trabajos:

- Cortes, C., Ibarra-Hernández, J.M., Grados-Porro, E., Eguibar, J.R. (2022). Testicular androgens determining the incidence of spike-wave discharges in *taiep* rats: A model of H-ABC leukodystrophy. *Neuroscience Letters*, **782**:1-5.
- Plata-Corona, M.A., López-Aguilar, M.A., Ibarra-Hernández, J.M., Tello-Cavazos, J., Marcial-Cuevas, L.F. (2022). A case report, bilateral spontaneous pneumothorax as a late complication for SARS CoV-2 infection. *Radiology Case of Reports*, **17**(6):2265-2268.
- Cortes, C., Ibarra-Hernández, J.M., van Lüjtelaar, G., Eguibar, J.R. (2022). Sex and age differences in absence seizures of the *taiep* rat: a model of H-ABC a leukodystrophy. *Epilepsia*, en consideración de los revisores.
- Cortes, C., Eguibar, J.R., Ibarra-Hernandez, J.M. (2021). Bicuculine increased the cataplexy in the male *taiep* rats: an animal model of narcolepsy with an inherent tubulopathy. *Sleep*, **43**:A163.
- Ibarra-Hernandez, J.M., Cortes, C., Eguibar, J.R. (2019). La bicuculina incrementa los episodios de inmovilidad en la rata *taiep*, un modelo de narcolepsia-cataplejía. *Medicina Universitaria*, **Suppl**:239.

Se escribió el siguiente capítulo de libro:

- Ibarra-Hernandez, J.M., Tello-Cavazos J., Cortes, C., Eguibar, J.R. (2022). Mecanismos neurobiológicos de las adicciones. En Creencias, motivos y consumo de alcohol y tabaco en estudiantes de nivel medio superior en el estado de Zacatecas. Delgadillo Legaspi, L.M., de Avila Arroyo, M.L., Gallegos Acevedo, M.G., Vidales Jara, M., Tenahua Quitl, I., Ávila Delgado, A., de la Fuente de la Torre, N. pp 23-55.

Se participó en los siguientes congresos internacionales:

- The reticular nucleus of the thalamus modulates the maintenance and termination of spike-wave discharges in the myelin mutant *taiep* rat. Exposición en cartel en la *Society for Neuroscience's 51<sup>st</sup> Annual Meeting*, celebrado del 11 al 16 de noviembre del 2022 en San Diego, California, Estados Unidos de América.
- The rostral thalamic reticular nucleus modulates the termination of absence seizures in the *taiep* myelin mutant rat: a model of leukodystrophy. Exposición en cartel en el *American Epilepsy Society Annual Meeting 2021*, celebrado del 3 al 7 de diciembre del 2021 en Chicago, Illinois, Estados Unidos de América y Online.
- The reticular nucleus of the thalamus modulates the onset of the absence seizures on the myelin mutant *taiep* rat. Exposición en cartel en la *Society for Neuroscience's 50<sup>th</sup> Annual Meeting*, celebrado del 8 al 11 de noviembre del 2021 en Chicago, Illinois, Estados Unidos de América (Online).

- Bicuculline increased the cataplexy in the male *taiep* rats: an animal model of narcolepsy with an inherent tubulopathy. Exposición en cartel en el *34th Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies 2020*, celebrado del 13 al 16 de junio del 2020 en Philadelphia, Pennsylvania, Estados Unidos de América.
- Testicular androgens modulate differentially absence seizures in adult myelin mutant *taiep* rats. Exposición en cartel en el 23<sup>rd</sup> Annual Meeting of the *Society for Behavioral Neuroendocrinology (SBN)*, celebrado del 19 al 22 de junio del 2019 en Indiana, Estados Unidos de América.
- Effect of gonadal steroid hormones on absence seizures in the myelin mutant *taiep* rat. Exposición en cartel en el *9<sup>th</sup> International Congress of Neuroendocrinology 2018 (ICN 2018)*, celebrado del 15 al 18 de julio del 2018 en Toronto, Ontario, Canadá.

En los siguientes congresos nacionales:

- El núcleo reticular talámico suprime las descargas espiga-onda en la rata mutante de mielina *taiep*. Exposición oral en el LXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, celebrado del 5 al 8 de octubre del 2022 en Puebla, Puebla.
- El núcleo reticular talámico rostral modula la aparición de las crisis de ausencia en la rata mutante de mielina *taiep*: un modelo de leucodistrofia. Exposición oral en trabajos de plataforma en el XLIII Reunión anual del Capitulo Mexicano de la Liga Internacional Contra la Epilepsia (CAMELICE), celebrado del 11 al 14 de agosto del 2021, Online.
- La inhibición del núcleo reticular del tálamo anula la aparición de las crisis de ausencia en la rata *taiep*. Exposición oral en el LXIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, celebrado del 13 al 15 de noviembre del 2020 en Guadalajara, Jalisco.
- Evaluación de somnolencia con la escala de Epworth en disponentes secundarios de donadores y no donadores. Exposición en cartel 5° Foro de Investigación de Ciencias de la Salud, celebrado del 27 al 28 de agosto del 2020 en Puebla, Puebla.
- La bicuculina incrementa los episodios de inmovilidad en la rata *taiep*, un modelo de narcolepsia cataplejía. Exposición oral en el XXX Congreso Nacional de Investigación e Innovación en Medicina, celebrado del 2 al 5 de octubre del 2019 en Monterrey, Nuevo León.
- El receptor GABA<sub>A</sub> incrementa las crisis de ausencia en la rata mutante de mielina *taiep*. Exposición oral en el LXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, celebrado del 11 al 15 de agosto del 2019 en Querétaro, Querétaro.
- Efecto del ácido valproico en las crisis de ausencia de la mutante de mielina *taiep*. Exposición en cartel en el LXI Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, celebrado del 12 al 16 de agosto del 2018 en la Ciudad de Colima, Colima.

Y adicionalmente, se obtuvo el **3<sup>er</sup> lugar** en la presentación de trabajos en plataforma en el **XLIII Reunión anual del Capítulo Mexicano de la Liga Internacional Contra la Epilepsia (CAMELICE)**, celebrado del 11 al 14 de agosto del 2021 con el trabajo titulado: El núcleo reticular talámico rostral modula la aparición de las crisis de ausencia en la rata mutante de mielina *taiep*: un modelo de leucodistrofia.

Se logró el nombramiento como **Candidato a Investigador del Sistema Nacional de Investigadores**, demostrando contar con una trayectoria relevante para ser miembro del Sistema Nacional de Investigadores.

# ÍNDICE

---

<b>Lista de abreviaturas</b> .....	<b>1</b>
<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>4</b>
<b>2. ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>8</b>
3.1 Terminología y clasificación de las crisis y la epilepsia .....	8
3.2 Características de las crisis de ausencia .....	12
3.3 Fisiopatología de las crisis de ausencia .....	14
La hipótesis centroencefálica de Penfield y Jasper .....	15
La hipótesis corticorreticular de Gloor .....	15
La hipótesis cortical de Bancaud-Niedermeyer-Lüders.....	16
La hipótesis del reloj talámico de Buzsáki.....	16
La hipótesis cortico-focal de Meeren .....	17
3.4 El circuito tálamo-cortical .....	19
Las neuronas tálamo-corticales.....	20
El núcleo reticular talámico.....	21
3.5 Sincronización del núcleo reticular del tálamo con las neuronas tálamo-corticales.....	25
Las sinapsis GABAérgicas.....	25
Rol de las sinapsis eléctricas en el tálamo.....	28
3.6 El núcleo reticular talámico en las crisis de ausencia.....	28
3.7 Espasmos faciales en las crisis de ausencia.....	32
3.8 Crisis de ausencia y diferenciación sexual.....	33
3.9 Farmacoterapia en las crisis de ausencia .....	35
Etosuximida .....	36
Mibefradil .....	36
Gaboxadol.....	37
Bicuculina .....	38
3.10 Modelos animales de las crisis de ausencia .....	38
La rata Genetic Absence Epilepsy from Strasbourg (GAERS) .....	40
La rata Wistar Albino Glaxo/Rijswijk (WAG/Rij) .....	42
La rata tremor.....	43
La rata <i>taiep</i> .....	44
A. Desmielinización debido a la leucodistrofia H-ABC.....	45
B. Epilepsia del tipo crisis de ausencia .....	55
<b>4. ANTECEDENTES</b> .....	<b>58</b>
<b>5. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>59</b>
<b>6. HIPÓTESIS</b> .....	<b>60</b>
<b>7. OBJETIVOS</b> .....	<b>61</b>
7.1 Objetivo general .....	61
7.2 Objetivos particulares .....	61
<b>8. METODOLOGÍA</b> .....	<b>62</b>
8.1 Animales de experimentación.....	62
8.2 Grupos experimentales para el análisis de las crisis de ausencia por edad y sexo.....	63
8.3 Grupos experimentales para el análisis de las crisis de ausencia en ratas orquiectomizadas	63
8.4 Grupos experimentales para el análisis del núcleo reticular del tálamo .....	64

8.5 Implante de los electrodos y de la cánula intracerebral .....	65
8.6 Orquiectomía.....	67
8.7 Habitación pre-registro .....	68
8.8 Registro .....	68
8.9 Estudios morfológicos .....	71
Perfusión cardiaca .....	71
Examen histológico del cerebro .....	72
8.10 Inmunodetección de las enzimas GAD-65 y 67 y del receptor GABA <sub>A</sub> .....	72
8.11 Análisis Estadístico .....	74
<b>9. RESULTADOS .....</b>	<b>76</b>
9.1 Caracterización de las crisis de ausencia por edad y sexo .....	76
Variaciones circadianas de las crisis de ausencia en la rata <i>taiep</i> .....	77
Análisis del espectro de potencia de las crisis de ausencia en la rata <i>taiep</i> .....	80
9.2 Análisis de las crisis de ausencia en ratas orquiectomizadas.....	82
9.3. Examen histológico del cerebro .....	83
9.4 Efecto de la administración de bloqueadores de canales de Ca <sup>+2</sup> tipo T en el núcleo reticular del tálamo rostral .....	84
Etosuximida .....	84
Mibefradil .....	91
9.5 Efecto de la administración de GABAérgicos en el núcleo reticular del tálamo rostral .....	98
Gaboxadol.....	98
Bicuculina .....	108
9.6 Expresión de las enzimas GAD-65 y 67 y del receptor GABA <sub>A</sub> en el circuito tálamo-cortical	115
<b>10. DISCUSIÓN.....</b>	<b>119</b>
10.1 Caracterización de las crisis de ausencia por sexo y edad .....	122
10.2 Efecto de la orquiectomía en las crisis de ausencia de la rata <i>taiep</i> .....	126
10.3 Efecto del bloqueo de los canales de Ca <sup>+2</sup> tipo T en el núcleo reticular del tálamo en la rata <i>taiep</i> .....	128
10.4 Efecto GABAérgico en el núcleo reticular del tálamo en la rata <i>taiep</i> .....	130
10.5 Expresión de la enzima GAD-65 y 67 y del receptor GABA <sub>A</sub> en el circuito tálamo-cortical	132
<b>11. CONCLUSIONES.....</b>	<b>135</b>
<b>12. ANEXOS .....</b>	<b>138</b>
12.1 Comparación temporal de la presentación de las crisis de ausencia .....	138
12.2 Acople de las estructuras que conforman el circuito tálamo cortical durante una descarga espiga-onda .....	139
12.3 Potenciales provocados auditivos en la rata <i>taiep</i> y en un paciente con H-ABC.....	141
12.4 Prevalencia de epilepsia en casos con leucodistrofia .....	142
12.5 Prevalencia de epilepsia en las tubulinopatías .....	143
12.6 Comparación de los registros electroencefalográficos de las ratas GAERS, WAG/Rij y <i>taiep</i> .....	144
12.7 Morfología de las descargas espiga-onda en el humano y la rata <i>taiep</i> , GAERS y WAG/Rij	145
<b>13. REFERENCIAS .....</b>	<b>147</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

1S	Primera espiga positiva de la descarga espiga-onda
2S	Segunda espiga positiva de la descarga espiga-onda
ADL	Adrenoleucodistrofia
ADL X	Adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X
AP	Antero-posterior
As	Astrocito
BCA	Ácido bicinconínico
BS	Tronco encefálico
Ce	Cerebelo
C <sub>máx</sub>	Concentración máxima
Cx	Corteza cerebral
Cx F	Corteza frontal
Cx M1	Corteza motora primaria
Cx O	Corteza occipital
Cx S1	Corteza somatosensitiva primaria
Da	Dáltones
DEO	Descarga espiga-onda
DEO CxF	Descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal
Dienc	Diencéfalo
DV	Dorso-ventral
EA	Enfermedad de Alexander
EEG	Electroencefalograma
EMG	Electromiograma
EOG	Electrooculograma
EM	Enfermedad mitocondrial
EPM	Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher
EPSP	Potencial postsináptico excitatorio
ESBD	Enfermedad de la sustancia blanca que desaparece
F	Biodisponibilidad absoluta
GABA	Acido g-aminobutírico
GABA <sub>A</sub>	GABA tipo A
GABA <sub>B</sub>	GABA tipo B
GABA <sub>C</sub>	GABA tipo C
GABA-T	GABA-transaminasa
GAD	Glutamato descarboxilasa
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats

GAM	Glicoproteína asociada a la mielina
H-ABC	Hipomielinización con atrofia de núcleos basales y cerebelo
H <sub>máx</sub>	Hora máxima
Hp	Hipocampo
i.p.	Intraperitoneal
i.v.	Intravenoso
I <sub>Ca</sub>	Corriente de calcio
I <sub>CAN</sub>	Corriente catiónica no selectiva
IIC	Interneurona inhibitoria cortical
I <sub>K</sub>	Corriente de potasio
I <sub>KCa</sub>	Corriente de potasio y calcio
ILAE	International League Against Epilepsy
I <sub>NA</sub>	Corriente de sodio
IPSP	Potencial postsináptico inhibitorio
IRM	Imagen por resonancia magnética
I <sub>T</sub>	Corriente de calcio tipo T
LeuPol-3	Leucodistrofia relacionada al ARN-polimerasa III
LMQS	Leucodistrofia megalencefálica con quistes subcorticales
ML	Medio-lateral
MOR	Movimientos oculares rápidos
NCF	Enzima 3'5'-nucleótido-cíclico fosfodiesterasa
NMDA	N-metil-D-aspartato
NP	Neurona piramidal
nRT	Neurona reticular talámica
NRT	Núcleo reticular del tálamo
NS	No significativo
Nt	Neurotransmisor
NTa	Núcleos talámicos anteriores
NTp	Núcleos talámicos posteriores
PBM	Proteína básica de mielina
PBS	Buffer de fosfatos salino
P <sub>c</sub>	Porcentaje de cambio
PEP	Potencial excitatorio postsináptico
PMSF	Fenil-metil-sulfonil-florde
PPL	Proteína proteolipídica
pre-DEO CxF	Pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal
pre-DEO NRT	Pre-descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo
RGABA <sub>A</sub>	Receptor GABA tipo A
RGABA <sub>B</sub>	Receptor GABA tipo B
RT	Cortico-reticular

SD	Sprague-Dawley
SDS	Dodecil-sulfato de sodio
SDS-PAGE	Gel de poliacrilamida y dodecil-sulfato de sodio
SER	Spontaneously Epileptic Rat
SSA	Succínico semialdehído
$t_{1/2}$	Vida media
TBST	Buffer de tris-salino con Tween® 20
TC	Tálamo-cortical
TCe	Neuronas tálamo-corticales específicas
TCne	Neuronas tálamo-corticales no específicas
THIP	4,5,6,7-tetrahidroisoxazolo (5,4-c) piridin-3-ol
$T_{máx}$	Tiempo para alcanzar la concentración máxima en plasma
TMB	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina
TUBB4A	Tubulina beta 4A
TV	Tercer ventrículo
U.A.	Unidades arbitrarias
v.o.	Vía oral
VL	Ventrículo lateral
VP	Ventroposterior
VPM	Ventroposteromedial
W	Onda de la descarga espiga-onda
WAG/Rij	Wistar Albino Glaxo/ Rijswijk rats

## 1. RESUMEN

---

Las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia generalizada con pérdida de la conciencia, que se caracterizan por descargas espiga-onda (DEO) en el electroencefalograma. Las crisis son causadas por un decremento en la actividad del receptor para el ácido  $\gamma$ -aminobutírico tipo A (GABA<sub>A</sub>) fásico en la corteza somatosensitiva, y a un aumento en la inhibición mediada por los receptores GABA<sub>A</sub> tónicos en el circuito tálamo-cortical, donde el núcleo reticular del tálamo (NRT) tiene la función de mantener o yugular las DEO. El objetivo de este estudio fue el de caracterizar las crisis de ausencia por sexo y edad en la rata *taiep*, y determinar el rol de la región rostral NRT durante las crisis de ausencia en ratas *taiep* macho adultas.

Se implantaron electrodos en el NRT, corteza cerebral, músculos de la nuca y órbita del ojo en ratas *taiep*. Una primera etapa fue la caracterización de las DEO electrofisiológicamente y su dimorfismo sexual, para lo que se emplearon ratas de 3, 6, 9 y 12 meses de edad de ambos sexos, se les realizó un video-EEG de 24 horas de duración y se les analizó el número y la duración de las crisis de ausencia, así como la latencia a la primera DEO y el espectro de potencia de las DEO. Posteriormente, se usaron ratas macho de 3 meses de edad las cuales se dividieron en tres grupos: machos controles sin orquiectomía, con orquiectomía a edad adulta y con orquiectomía a edad neonatal; se les realizó un video-EEG de 24 horas y se cuantificó el número y la duración de las crisis de ausencia. Adicionalmente, en ratas *taiep* macho de 6 meses de edad, se administró bilateralmente en el NRT rostral, etosuximida a dosis de 25, 50 y 100  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; o mibefradil un bloqueador específico de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  a dosis de 1, 2 y 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; de gaboxadol un agonista del receptor GABA<sub>A</sub> a las dosis de 7.5, 15 y 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; o de bicuculina un antagonista del receptor GABA<sub>A</sub> con las dosis de 50, 100 y 200  $\text{ng}/\mu\text{L}$ . Se les realizó un video-EEG control, seguido de 3 registros con dosis crecientes de cada droga con un intervalo de 48h. Se analizaron el número y la duración de las crisis de ausencia, así como la latencia a la primera DEO, el espectro de potencia de las DEO, la coherencia cerebral entre las cortezas frontal y occipital, y estas con el NRT, así como el número y duración de las DEO en la corteza frontal y el núcleo reticular. Finalmente, en un cuarto experimento empleando la técnica de Western-Blot se cuantificó la expresión de las enzimas glutamato descarboxilasa de 65 KDa (GAD-65) y de 67 KDa (GAD-67), así como para el receptor GABA<sub>A</sub> en la corteza somatosensitiva y en el tálamo de ratas *taiep*, comparándose con ratas Sprague-Dawley (SD). Los resultados se analizaron mediante ANOVA seguido de la prueba de Bonferroni o de t de Student según el caso. Se consideró significativo una  $P < 0.05$ .

Los presentes resultados muestran que las crisis de ausencia de la rata *taiep* incrementan en número y duración con la edad, presentándose desde los 3 meses de edad en las ratas macho y hasta los 6 meses en las ratas hembra. Las crisis presentan un ritmo circadiano a partir de los 9 meses de edad, con acrofase en la fase de luz del ciclo circadiano. Las DEO de la rata *taiep* tienen una frecuencia de 6.30 Hz sin cambiar con la edad o el sexo. La orquiectomía a edad neonata disminuye significativamente la incidencia de las crisis, aumentando cuando la

orquiectomía se realiza a edad adulta ( $P < 0.001$ ). Adicionalmente, la rata *taiep* tiene un decremento de las enzimas GAD-65 y 67 en la corteza somatosensitiva ( $P < 0.05$ ), con un incremento de la expresión de la enzima GAD-67 en el tálamo ( $P < 0.05$ ) respecto con la rata control SD. El bloqueo de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T en el NRT rostral de la rata *taiep* con la administración de etosuximida y mibefradil, disminuye la duración de las crisis de ausencia ( $P < 0.001$ ) e incrementan la latencia para que se presente la primera DEO ( $P < 0.05$ ). Mientras que la administración del gaboxadol suprime las crisis de ausencia hasta por 4 horas ( $P < 0.001$ ) y disminuye la frecuencia de las DEO desde 6.25 hasta 4.69 Hz. Posterior a esto, aparece un efecto de enfasado temporal con aumento en la coherencia cerebral en el circuito tálamo-cortical. Por el contrario, el antagonista de los receptores  $GABA_A$ , la bicuculina, aumentó el número de crisis de ausencia ( $P < 0.05$ ) y disminuyó su duración ( $P < 0.001$ ), produciendo descargas espiga-onda de frecuencia más rápida, con un incremento de la coherencia cerebral, e incremento en el número de descargas espiga-onda en el núcleo reticular.

En conclusión, nuestros resultados muestran que la rata *taiep* es un modelo válido para la epilepsia de ausencia típica, siendo los machos más susceptibles que las hembras, teniendo los andrógenos testiculares un rol dual ya que la orquiectomía a edad neonatal disminuye las DEO, mientras que en edad adulta las aumenta. Adicionalmente, demostramos que las DEO tienen una frecuencia principal de 6.30 Hz, y que el NRT es determinante para su mantenimiento. Finalmente, concluimos que la región rostral es clave para la finalización de las descargas espiga-onda.

## 2. ABSTRACT

---

Absence seizures are a type of generalized epilepsy with loss of consciousness characterized by spike-wave discharges (SWD) on the electroencephalogram. SWD is caused by decreased phasic activity of  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor (GABA<sub>A</sub>) in the somatosensory cortex and increased tonic GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition in the thalamo-cortical circuit, where the reticular nucleus of the thalamus (RNT) function is to keep or delete SWD. The aim of this study was to characterize absence seizures by sex and age in the *taiep* rat and determine the role of the rostral region RNT during absence seizures in adult male *taiep* rats.

Electrodes were implanted in the RNT, cerebral cortex, nuchal muscles, and eye orbit in *taiep* rats. A first stage was the electrophysiological characterization of SWD and their sexual dimorphism, for which rats of both sexes of 3, 6, 9 and 12 months of age were used, they underwent a 24-hour video-EEG and the number and duration of absence seizures were analyzed, as well as the latency to the first DEO and the power spectrum of the DEOs. Subsequently, 3-month-old male rats were used, which were divided into three groups: control males without orchiectomy, with orchiectomy at adult age, and with orchiectomy at neonatal age; a 24-hour video-EEG was done and the number and duration of absence seizures were quantified. Additionally, in 6-month-old male *taiep* rats, were administered with ethosuximide bilaterally in the rostral RNT at doses of 25, 50 and 100  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; or mibefradil, a specific blocker of  $\text{Ca}^{+2}$  channels at doses of 1, 2 and 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; gaboxadol, a GABA<sub>A</sub> receptor agonist at doses of 7.5, 15 and 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; or bicuculline, a GABA<sub>A</sub> receptor antagonist at doses of 50, 100, and 200  $\text{ng}/\mu\text{L}$ . A control video-EEG was done, followed by 3 recordings with increasing doses of each drug with an interval of 48h. The number and duration of absence seizures were analyzed, as well as the latency to the first SWD, the power spectrum of the SWD, the cerebral coherence between the frontal and occipital cortices, and these with the RNT, as well as the number and duration of SWD in the frontal cortex and RNT. Finally, in a fourth experiment using the Western-blot technique, the expression of the 65 KDa (GAD-65) and 67 KDa (GAD-67) glutamate decarboxylase enzymes and for the GABA<sub>A</sub> receptor was quantified in the somatosensory cortex and the thalamus of *taiep* rats and compared with Sprague-Dawley (SD) rats. The results were analyzed by ANOVA followed by the Bonferroni test or student's t, depending on the case.  $P < 0.05$  was considered significant.

The present results show that the absence seizures in the *taiep* rat increase in number and duration with age, presenting from 3 months of age in male rats and up to 6 months in female rats. Seizures present a circadian rhythm from 9 months of age, with acrophase in the light phase of the circadian cycle. *Taiep* rat SWD has a frequency of 6.30 Hz without changing with age or sex. Orchiectomy at neonatal age significantly decreases the incidence of crises, increasing when orchiectomy is performed at adult age ( $P < 0.001$ ). Additionally, the *taiep* rat has a decrease in the enzymes GAD-65 and 67 in the somatosensory cortex ( $P < 0.05$ ), with an increase in the expression of the enzyme GAD-67 in the thalamus ( $P < 0.05$ ) compared to the SD control rat. Blockade of T-type  $\text{Ca}^{+2}$  channels in the rostral RNT of the *taiep* rat with the administration of ethosuximide and mibefradil decreases the duration of

absence seizures ( $P < 0.001$ ) and increases the latency for the first seizure to occur. SWD ( $P < 0.05$ ). While the administration of gaboxadol suppresses absence seizures for up to 4 hours ( $P < 0.001$ ) and decreases the frequency of SWD from 6.25 to 4.69 Hz. After this, a temporal phasing effect appears with an increase in cerebral coherence in the thalamo-cortical circuit. In contrast, the GABA<sub>A</sub> receptor antagonist, bicuculline, increased the number of absence seizures ( $P < 0.05$ ) and decreased their duration ( $P < 0.001$ ), producing faster-frequency spike-wave discharges, with an increase in cerebral coherence, and an increase in the number of spike-wave discharges in the reticular nucleus.

In conclusion, our results show that the *taiep* rat is a valid model for typical absence epilepsy, males being more susceptible than females, with testicular androgens having a dual role since orchietomy at neonatal age decreases SWD, while in adulthood it increases them. Additionally, we show that the SWD have a main frequency of 6.30 Hz, and that the RNT is decisive for their maintenance. Where the rostral region is key to the completion of spike-wave discharges.

### 3. INTRODUCCIÓN

---

La epilepsia es el padecimiento cerebral crónico más frecuente en todo el mundo, reportándose hasta 50 millones de pacientes, con 2.4 millones de casos nuevos diagnosticados a nivel global cada año (Organización Mundial de la Salud, 2019). Del total de casos, 5 millones corresponden a Latinoamérica (Acevedo y cols., 2008), existiendo un total de entre 1.4 a 2.5 millones de pacientes con epilepsia en México, y representan un 28 % de los pacientes que asisten a la consulta de neurología (Kestel y cols., 2013).

#### **3.1 TERMINOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN DE LAS CRISIS Y LA EPILEPSIA**

El término crisis se refiere a la aparición transitoria de signos y/o síntomas debidos a una actividad neuronal anormal o excesiva en el cerebro (Fisher y cols., 2017).

Se denomina epilepsia al padecimiento del cerebro definido por uno de los siguientes criterios:

1. Al menos dos crisis no provocadas que ocurren con más de 24 horas de diferencia.
2. Una crisis con la probabilidad del 60 % de que aparezcan crisis adicionales, después de dos crisis no provocadas en los próximos 10 años.
3. El diagnóstico de algún síndrome epiléptico.

Con base en lo propuesto por Fisher y cols., 2017.

El término epilepsia deriva del griego *επιληψια* (epilêpsia) que significa “ser tomado” o “ser atacado”. Esta patología se caracteriza por la pérdida de la conciencia y del control motor en el sujeto, lo que hizo fácilmente pensar en la antigüedad que durante estas crisis el paciente epiléptico está dominado por algún demonio o espíritu. Por lo que la epilepsia fue llamada *la enfermedad sagrada* (Alsina, 1990).

Se considera un paciente con epilepsia en remisión cuando el individuo permanece libre de crisis durante los últimos diez años, y sin medicamentos antiepilépticos durante los últimos cinco años (Fisher y cols., 2017).

Actualmente, las crisis y los trastornos epilépticos han sido clasificados con base en los criterios propuestos por la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE por sus siglas en inglés) en una estratificación multinivel (Scheffer y cols., 2017). En el primer nivel se encuentran los diferentes tipos de crisis, en el segundo nivel los tipos de epilepsias y en el tercer nivel los diferentes tipos de síndromes epilépticos (véase Figura 1). Los tres niveles también pueden clasificarse según su etiología y/o las comorbilidades que las acompañan (Scheffer y cols., 2017).



**Figura 1. Clasificación multinivel de las crisis y la epilepsia con base en la actualización de los criterios de la ILAE en el 2017.** En el primer nivel se encuentran los tipos de crisis, en el segundo nivel los tipos de epilepsia y en el tercer nivel los síndromes epilépticos. Desde el primer nivel de la clasificación, es posible asignarle un tipo de etiología y a su vez asociarla a otras comorbilidades (Scheffer y cols., 2017).

Las crisis se clasifican entonces en:

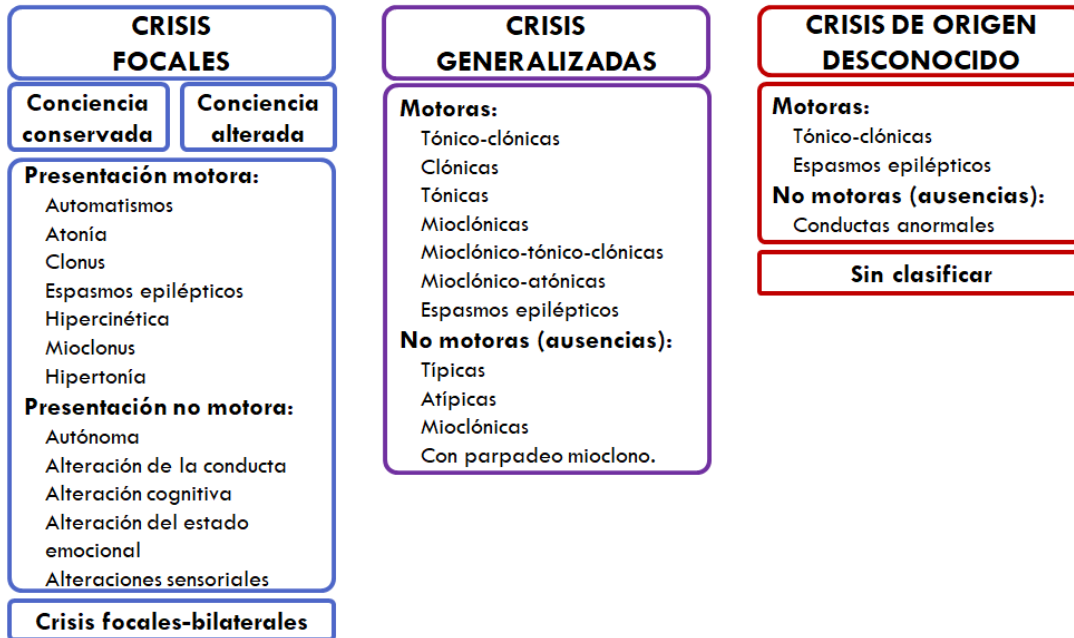
- Crisis focales: los cuales son crisis que se originan en algún momento dentro de las redes neuronales limitadas a un hemisferio. Pueden estar directamente localizadas o ampliamente distribuidas. Se describen semiológicamente con base en:

- Estado de conciencia durante la crisis (opcional).
- De presentación motora: con automatismos, atonía, clonus, espasmos epilépticos, hipercinéticas, mioclonus y/o hipertonía.
- De presentación no motora: autónoma, alteración de la conducta, alteración cognitiva, alteración del estado emocional (euforia, disforia) y/o alteraciones sensitivas.
- Su evolución focal-bilateral: es un tipo especial de crisis focal que evoluciona a una crisis generalizada.
- Crisis generalizadas: Son crisis originadas dentro de las redes neuronales que rápidamente se acoplan de manera bilateral en ambos hemisferios cerebrales, las cuales pueden ser:
  - Motoras: clónicas, tónicas, mioclónicas, tónico-clónicas, mioclónico-atónicas, mioclónico-tónico-clónicas o espasmos epilépticos.
  - No motoras (ausencias): típicas, atípicas, mioclónicas o con parpadeo mioclónico.
- Crisis de origen desconocido: son las crisis con las que no se cuenta con evidencia suficiente para caracterizarlas en focales, generalizadas o ambas. Estas pueden ser:
  - Motoras: tónico-clónicas o espasmos epilépticos.
  - No motoras: conductas anormales.
  - Sin clasificar.

En el segundo nivel las epilepsias se clasifican en:

- Epilepsias focales: Son epilepsias con uno o múltiples focos de crisis que involucran a un solo hemisferio. Abarca una variedad de tipos de crisis incluyendo las crisis motoras focales, las crisis no motoras focales, las crisis focales con alteración de la conciencia, hasta las crisis tónico-clónicas focales bilaterales (Scheffer y cols., 2017).

Véase la Figura 2 para la clasificación de los tipos de crisis propuestos por la ILAE en el 2017.



**Figura 2. Clasificación de las crisis con base en la actualización de la ILAE en el 2017.** Las crisis focales se pueden clasificar de acuerdo con el estado de conciencia (opcional), la presentación motora y no motora, o en crisis focales-bilaterales si evolucionan a crisis generalizadas. Las crisis generalizadas se clasifican en crisis motoras o en no motoras (ausencias). Se consideran de presentación desconocida si no se cuenta con evidencia suficiente para caracterizarlas en crisis focales o generalizadas (Fisher y cols., 2017).

- Epilepsias generalizadas: Son epilepsias con crisis originadas en algún punto dentro de las redes neuronales que rápidamente se acoplan en ambos hemisferios cerebrales. Los individuos con epilepsias generalizadas pueden tener una variedad de tipos de crisis incluyendo las crisis de ausencia, las crisis mioclónicas, atónicas, tónicas y tónico-clónicas (Scheffer y cols., 2017).
- Epilepsias focales y generalizadas combinadas: Son epilepsias donde el individuo presenta crisis focales y a la vez generalizadas (Scheffer y cols., 2017).

En el nivel tres, los síndromes epilépticos son grupos de síntomas que incluyen tipos de crisis, sus causas, la edad de inicio y otros factores; la mayoría de estos síndromes tienen un importante componente genético y se expresan de modo característico por crisis mioclónicas, tónico-clónicas y de tipo ausencia (Tabla 1, Scheffer y cols., 2017).

**Tabla 1. Clasificación por etapa de la vida de los síndromes epilépticos.**

<b>Periodo neonatal:</b>	
1. Crisis neonatales benignas	3. Síndrome de Ohtahara
2. Epilepsia familiar neonatal benigna	4. Encefalopatía mioclónica temprana
<b>Lactancia:</b>	
1. Crisis febriles	6. Epilepsia mioclónica de la infancia
2. Epilepsia benigna de la infancia	7. Epilepsia mioclónica en encefalopatía no progresiva
3. Epilepsia familiar benigna de la infancia	8. Epilepsia de la infancia con crisis focales migratorias
4. Síndrome de West	
5. Síndrome de Dravet	
<b>Infancia:</b>	
1. Crisis febriles	7. Epilepsia occipital de la infancia de inicio tardío (Gastaut)
2. Epilepsia occipital de la infancia de inicio temprano	8. Epilepsia con ausencias mioclónicas
3. Epilepsia con crisis mioclono atónicas	9. Síndrome de Lennox-Gastaut
4. Epilepsia ausencia infantil	10. Encefalopatía epiléptica con patrón espiga-onda durante el sueño
5. Epilepsia benigna con puntas centrotemporales	11. Síndrome de Landau-Kleffner
6. Epilepsia frontal nocturna autosómica dominante	
<b>Adolescencia y edad adulta:</b>	
1. Ausencia juvenil	4. Autosómica dominante con características auditivas
2. Mioclónica juvenil	5. Otras epilepsias familiares del lóbulo temporal
3. Crisis generalizadas tónico-clónicas solamente	
<b>Edad de inicio variable:</b>	
1. Epilepsia focal familiar con focos variables	3. Epilepsias reflejas
2. Epilepsias mioclónicas progresivas	

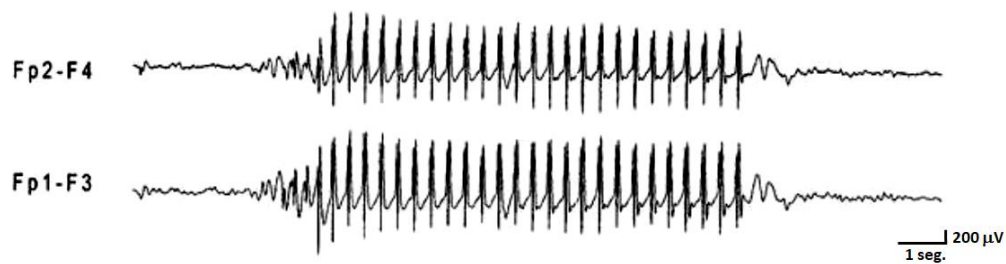
Tomado de Scheffer y cols., 2017.

### **3.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS CRISIS DE AUSENCIA**

Aproximadamente un 10% de las crisis en pacientes pediátricos con epilepsia son del tipo de ausencia (Posner, 2013). La incidencia anual se ha estimado entre un 0.7 a 4.6 por cada 100,000 personas en la población general, y de seis a ocho por cada 100,000 en niños de cero a 15 años de edad, con una prevalencia de 5 a 50 por cada 100,000 personas en la población general, calculándose de 6.3 mil a 63 mil casos en México (Posner, 2013).

En humanos las crisis de ausencia son un tipo de crisis generalizada, caracterizada por breves episodios de mirada fija y pérdida del estado de conciencia, con una duración que oscila de 20 a 30 segundos; reanudando las actividades motoras al final del periodo ictal (Posner, 2013). En el electroencefalograma se presenta un patrón característico de descargas espiga-onda sincrónicas y bilaterales (Figura 3). El inicio y término son repentinos, con un

registro electroencefalográfico sin depresión del voltaje post-ictal (Valdivia y cols., 2007).



**Figura 3. Registro electroencefalográfico de una descarga espiga-onda en un paciente de ocho años de edad.** Note la forma de la descarga espiga-onda la cual se caracteriza por dos componentes: una onda con una duración de aproximadamente 300 ms, y un pico con una duración de 50 ms a 100 ms. Note que al finalizar la descarga espiga-onda el registro vuelve a un patrón similar al que se presenta antes de la crisis. Fp2-F4: electrodo bipolar en corteza frontal derecha; Fp1-F3: electrodo bipolar en corteza frontal izquierda. Modificado de Crunelli y Leresche, 2002.

Según las características clínicas y los hallazgos en el electroencefalograma, se dividen las crisis de ausencia en típicas, atípicas y con características especiales (Fisher y cols., 2017). Las crisis de ausencia típicas están asociadas con un electroencefalograma que muestra espigas generalizadas y simétricas regulares con complejos de onda lenta al mismo tiempo que hay detención de la conducta. Las crisis de ausencia atípicas se caracterizan por un inicio y un desplazamiento menos abruptos, una duración más larga, cambios en el tono muscular y un deterioro variable de la conciencia, asociándose con espigas y ondas lentas, difusas, irregulares y asimétricas en el electroencefalograma (Brig y Igwe, 2010; Fisher y cols., 2017).

La ILAE desde su reporte acerca de la terminología y clasificación del 2010, han reconocido dos tipos adicionales de crisis de ausencia que están asociados con características especiales: las crisis de ausencia mioclónicas y las crisis de ausencia con parpadeo mioclónico (Berg y Cross, 2010; Fisher y cols., 2017). Las crisis de ausencia mioclónicas son crisis de ausencia con movimientos mioclónicos rítmicos, causando por la abducción de las extremidades superiores que lleva a una elevación progresiva del brazo, y asociada con descargas espiga-

onda generalizadas, el deterioro de la conciencia puede no ser tan evidente (Fisher y cols., 2017).

Por otro lado, las crisis de ausencia con parpadeo mioclónico se presentan parpadeos continuos con desviación hacia arriba de la mirada, a menudo precipitados por el cierre de los ojos o por un destello de luz. Pueden asociarse con las crisis de ausencias, pero también pueden ser crisis motoras sin una crisis de ausencia correspondiente, lo que dificulta su categorización. En la clasificación de la ILAE en el 2017, al parpadeo mioclónico se considera dentro de las crisis no motoras o de ausencia; parece contradictorio por ser una presentación motora, pero la mioclonía en este caso se vincula electroencefalográficamente con las crisis de ausencia para diferenciarlas de las mioclonías que se caracterizan por crisis motoras (Brig y Igwe, 2010; Fisher y cols., 2017).

#### **3.3 FISIOPATOLOGÍA DE LAS CRISIS DE AUSENCIA**

Las crisis de ausencia se conocen desde el siglo XVIII, fueron descritas por Poupart en 1705, más tarde por Tissot en 1770 es quién las denominó *le petit mal* o pequeño mal. En el siglo XIX, en 1873 el neurólogo inglés John Hughlings Jackson propuso dos puntos de vista contradictorios sobre el “origen” de estas crisis (Avoli, 2012):

- 1) Las de origen generalizado: son crisis de ausencia que tienen origen en la corteza cerebral de ambos hemisferios. Esta hipótesis fue apoyada varios años después en la teoría del “ataque disrítico cerebral paroxístico” de Gibbs (Gibbs y cols., 2002).
- 2) Las de origen focal: son las crisis de ausencia tienen su origen en un área determinada de la corteza cerebral y desde ésta se propagan hacia el tálamo y de nuevo a la corteza, en un circuito reverberante.

A lo largo de la historia aparecieron más pruebas que se contraponen a la teoría del origen generalizado de las crisis de ausencia; creándose una serie de hipótesis que apoyan, más bien, el “origen focal” (véase Figura 4):

1. Hipótesis centroencefálica de Penfield y Jasper, 1957.
2. Hipótesis corticorreticular de Gloor, 1968.
3. Hipótesis cortical de Bancaud-Niedermeyer-Lüders (1969-1972-1984)
4. Hipótesis del reloj talámico de Buzsáki, 1991.
5. Hipótesis cortico-focal de Meeren, 2005.

#### **La hipótesis centroencefálica de Penfield y Jasper**

En 1957, Penfield y Jasper propusieron la hipótesis “*Centroencefálica*” al registrar descargas espiga-onda ante la estimulación a baja frecuencia de los núcleos talámicos intralaminares, sugiriendo un origen subcortical de las descargas espiga-onda con un patrón sincrónico en ambos hemisferios cerebrales (Figura 4A; Meeren y cols., 2005; Avoli, 2012).

#### **La hipótesis corticorreticular de Gloor**

La hipótesis centroencefálica, se generó con base en investigaciones sobre la inducción del patrón espiga-onda al administrar fármacos quimioconvulsivantes en la corteza frontal de gatos y monos (Marcus y Watson, 1966, 1968). La sincronía depende entonces de la corteza somatosensitiva y de las estructuras subcorticales (Fischer-Williams y cols., 1968). Por lo que, Gloor propuso la hipótesis “*corticorreticular*” (Figura 4B), la cual se basa en que las descargas sincrónicas centroencefálicas que representan una oscilación anormal dentro de una red corticorreticular de neuronas, dan como resultado la ruptura de algún tipo de retroalimentación negativa entre la corteza cerebral y los núcleos subcorticales, mediados a través del sistema reticular talámico (Meeren y cols., 2005; Avoli, 2012).

Para poner a prueba esta hipótesis fue empleado el modelo de gato con epilepsia inducida con penicilina, un antagonista del receptor del ácido  $\gamma$ -aminobutírico tipo A (GABA<sub>A</sub>), descrito por Prince y Farrell en 1969 (citado en Avoli, 2012). Los experimentos en este modelo mostraron que:

1. Las neuronas del núcleo reticular talámico, las cuales son inhibitorias, comandan el ritmo de las crisis de ausencia, así como de los husos que se presentan durante el sueño de ondas lentas en la etapa 2.
2. La extracción quirúrgica de la neocorteza disminuye la aparición de las descargas espiga-onda.
3. La reducción de la excitabilidad cortical reemplaza las descargas espiga-onda por husos del sueño en el tálamo y en la neocorteza.
4. Las conexiones intracorticales y callosas son fundamentales para la propagación y la generalización de las descargas espiga-onda.

#### **La hipótesis cortical de Bancaud-Niedermeyer-Lüders**

De acuerdo con estudios de Bancaud, los registros electroencefalográficos en pacientes con descargas espiga-onda mostraron que las crisis de ausencia podrían localizarse inicialmente en la corteza cerebral, particularmente en el lóbulo frontal (Lüders y cols., 2013). Estas observaciones sugieren que las descargas espigas-onda son secundarias a una descarga en la corteza frontal, que se propaga rápidamente sobre toda la corteza cerebral a través de las vías cortico-corticales (Meeren y cols., 2005). Adicionalmente, Niedermeyer y Lüders (1972, 1984) propusieron que las epilepsias generalizadas son la expresión de una anomalía cortical. El tálamo ciertamente participa, pero es secundario en las interacciones tálamo-corticales fisiológicas. Por lo que en la hipótesis “*cortical*” propone que, es la corteza frontal, la que genera focos de descargas espigas-onda desde las cuales se propagan rápidamente sobre otras áreas corticales (véase Figura 4C; Meeren y cols., 2005; Lüders y cols., 2013).

#### **La hipótesis del reloj talámico de Buzsáki**

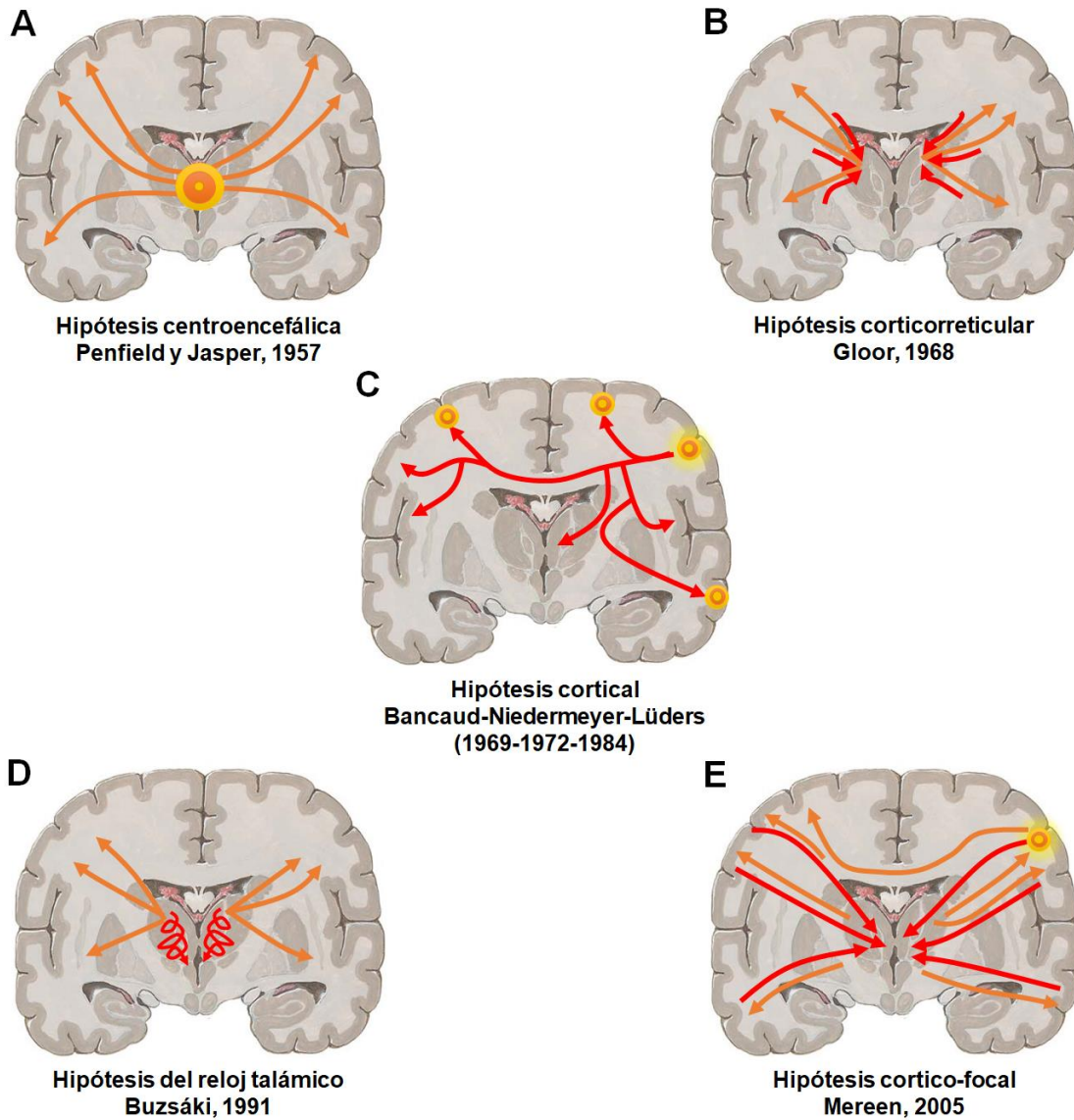
Experimentos en ratas con la administración en el tálamo de bloqueadores del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), como la ketamina, reducen la frecuencia y el mantenimiento del disparo de las neuronas tálamo-corticales, obteniéndose descargas espigas-onda corticales de alto voltaje de baja frecuencia. Por lo

anterior, en 1991 Buzsáki concluyó que existe una ritmicidad en la red tálamo-reticular aparte de la propiedad marcapaso de las neuronas talámicas, y que estas neuronas imponen su ritmo en la corteza cerebral, proponiendo así la denominada hipótesis del “*reloj talámico*” (Figura 4D; Buzsáki, 1991).

#### **La hipótesis cortico-focal de Meeren**

Estudios ulteriores realizados en el gato con epilepsia inducida con penicilina demostraron que estas crisis de ausencia son un fenómeno cortical focal y que por lo tanto no es influenciado por el tálamo (Timofeev y Steriade, 2004). Adicionalmente, el aumento de la excitabilidad cortical (Blumenfeld y McCormick, 2000) y el síndrome de privación del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) en la corteza cerebral (Brailowsky y cols., 1990) influyen en la aparición, frecuencia y la cantidad de oscilaciones del circuito tálamo-cortical y, por lo tanto, en la aparición del patrón espiga-onda en el electroencefalograma. Posteriormente, mediante registros intracelulares, se describió en modelos genéticos de crisis de ausencias un posible origen de las descargas espiga-onda en la capa V y VI de la corteza somatosensitiva en el área de representación de la cara, en particular la región perioral (Meeren, y cols., 2005).

En el 2005, basado en las investigaciones previas, Meeren propuso la hipótesis “*cortical-focal*” (Figura 4E), en la cual una hiperexcitación sincrónica de unas pocas neuronas piramidales, en la región perioral de la corteza somatosensitiva, pueden originar una rápida propagación hacia otras regiones de la corteza cerebral, desencadenando una cascada de impulsos a través de la red tálamo-cortical que produce el patrón característico de descargas espiga-onda (Meeren y cols., 2005).



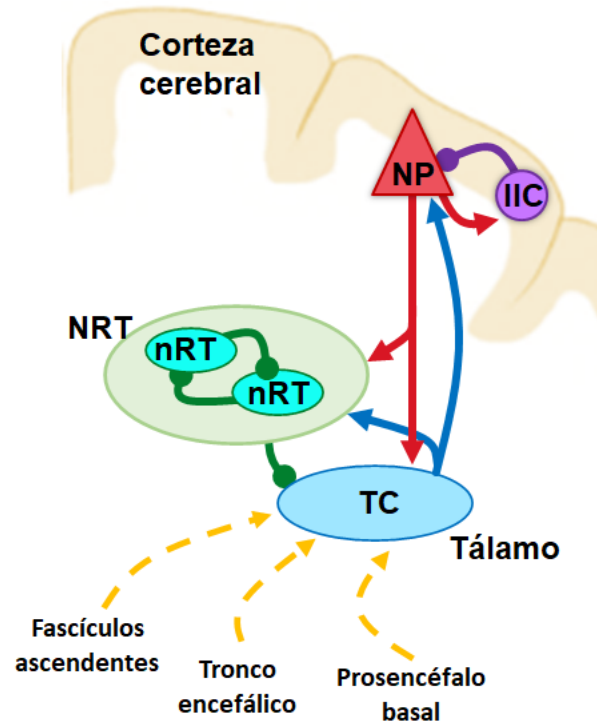
**Figura 4. Las cinco hipótesis que se han propuesto para explicar del origen de las crisis de ausencia.** **A)** Hipótesis centroencefálica la cual propone un origen subcortical de las descargas espiga-onda con generalización hacia ambos hemisferios. **B)** Hipótesis corticorreticular la cual propone que las descargas espiga-onda se deben a una oscilación anormal dentro de la red corticorreticular, rompiendo algún tipo de retroalimentación entre la corteza cerebral y los núcleos subcorticales. **C)** Hipótesis cortical propone que es la corteza frontal donde se generan los focos de descargas espigas-onda desde las cuales se propagan a otras áreas corticales. **D)** Hipótesis del reloj talámico propone que existe una ritmicidad en la red tálamo-reticular adicional a la propiedad marcapasos de las neuronas talámicas, las cuales imponen su ritmo a la corteza cerebral. **E)** Hipótesis cortico-focal la cual propone que una hiperexcitación sincrónica de unas pocas neuronas piramidales corticales pueden originar una rápida propagación hacia otras regiones de la corteza, a través de la red tálamo-cortical. Modificado de Mereen y cols., 2005.

#### **3.4 EL CIRCUITO TÁLAMO-CORTICAL**

En 1998 Guillery y Jones describieron el circuito tálamo-cortical, relevante para la regulación de la información aferente a la corteza cerebral, además para la generación de los husos del sueño y de las descargas espiga-onda de las crisis de ausencia (véase Figura 5). Este circuito está formado por cuatro tipos de neuronas, dos de las cuales son excitadoras: las piramidales y las tálamo-corticales; y dos inhibitorias; las del núcleo reticular talámico y las interneuronas inhibitorias corticales (Guillery y cols., 1998).

Las neuronas tálamo-corticales envían dos tipos de proyecciones hacia la corteza cerebral: las específicas que son consideradas como la principal proyección excitadora hacia las neuronas piramidales de la capa cortical VI; y las no específicas las cuales no discriminan entre las distintas capas corticales (Kostopoulos, 2000). Ambas proyecciones excitan al núcleo reticular del tálamo y están sujetas a su inhibición por retroalimentación negativa (Kostopoulos, 2000).

Las neuronas piramidales de la corteza cerebral retroalimentan al tálamo y además forman circuitos locales al hacer sinapsis colaterales con otras neuronas piramidales, así como con las interneuronas inhibitorias corticales, que por retroalimentación negativa disminuyen sus frecuencias de disparo. Las neuronas piramidales de la capa V constituyen la principal vía excitatoria de la corteza hacia las neuronas tálamo-corticales (Kostopoulos, 2000).



**Figura 5. Circuito tálamo-cortical.** Este circuito está formado por cuatro tipos de neuronas, dos de las cuales son excitadoras: las piramidales (NP) y las tálamo-corticales (TC); y dos inhibitorias; las neuronas reticulares tálamicas (nRT) y las interneuronas inhibitorias corticales (IIC). Las neuronas tálamo-corticales reciben información sensitiva de los fascículos ascendentes, del tronco encefálico y del prosencéfalo, enviándola posteriormente a las neuronas piramidales de la capa cortical VI, excitando también al núcleo reticular del tálamo (NRT) que las inhibe por retroalimentación negativa. Las neuronas piramidales retroalimentan al tálamo y tienen sinapsis colaterales con otras neuronas piramidales, así como con las interneuronas inhibitorias corticales, que las inhiben por retroalimentación negativa. Las neuronas piramidales de la capa V constituye la principal vía excitatoria de la corteza cerebral hacia las neuronas tálamo-corticales. Las sinapsis excitatorias se muestran con punta en flecha, mientras que las sinapsis inhibitorias se muestran con un extremo en círculo lleno y las líneas discontinuas amarillas son vías aferentes al tálamo.

### Las neuronas tálamo-corticales

Las neuronas tálamo-corticales son numerosas y con largas proyecciones a las diferentes capas de la corteza cerebral (Tononi, 2005). Las propiedades intrínsecas electrofisiológicas son importantes en la generación de los diferentes patrones de disparo y para la sincronización de las oscilaciones en las neuronas tálamo-corticales en su salida hacia las neuronas piramidales en la corteza cerebral. Las características descritas son:

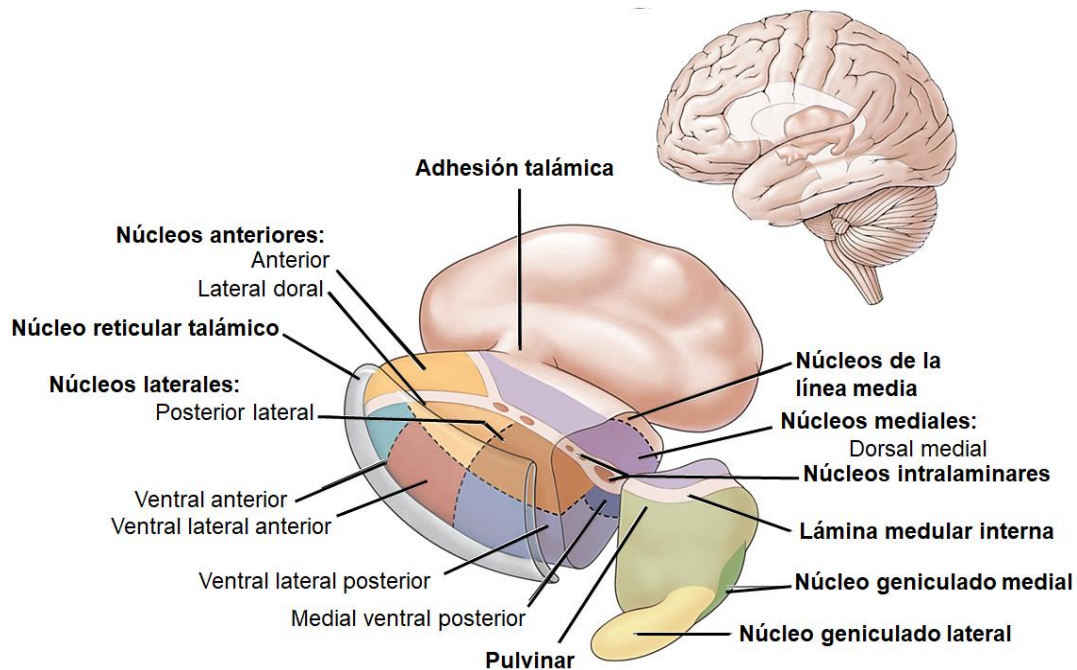
1. Las corrientes transitorias de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T, que generan espigas de bajo umbral.
2. La corriente catiónica activada por hiperpolarización que produce una despolarización mediante los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T, la cual está implicada en la generación de oscilaciones con frecuencias de 0 a 4 Hz, esto es en el rango del sueño de ondas lentas.
3. Las corrientes de  $\text{Ca}^{+2}$  activadas por alto voltaje (tipo L y N).
4. Las corrientes de sodio y potasio dependientes de voltaje.

Estas propiedades intrínsecas de las neuronas tálamo-corticales están influenciadas por la acción de las sinapsis inhibitorias del núcleo reticular talámico que contribuye en la desincronización de la actividad talámica rítmica (Tononi, 2005).

#### **El núcleo reticular talámico**

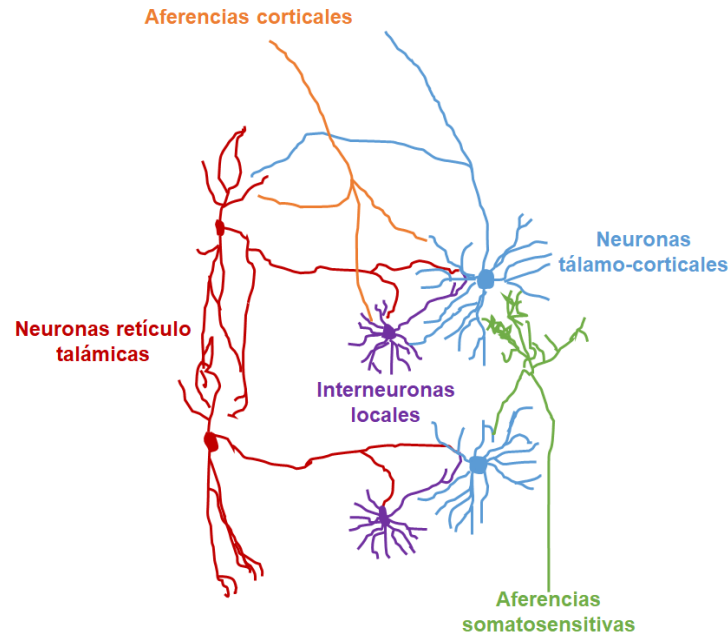
El núcleo reticular talámico se encuentra compuesto principalmente por neuronas GABAérgicas, las cuales participan en la regulación de las aferencias corticales y también en la sincronía de las ondas lentas del sueño (Fuentealba y Steriade, 2005). El núcleo reticular talámico se encuentra rodeando la superficie anterior, lateral y parte de la superficie ventral del tálamo dorsal, como se muestra en la Figura 6; y es atravesado por los axones del tálamo dorsal que hacen sinapsis en la neocorteza, lo que le da al núcleo su apariencia reticulada (Fuentealba y Steriade, 2005; Martin, 2013).

Las neuronas del núcleo reticular talámico tienen un soma o cuerpo celular con un diámetro de 20 a 50  $\mu\text{m}$ , a las cuales se les han descrito abundantes canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T distribuidos en sus dendritas distales (Fuentealba y Steriade, 2005). Mientras que sus axones son delgados (1.5  $\mu\text{m}$ ) y están mielinizados al pasar por el tálamo dorsal. Dentro del núcleo reticular talámico emiten de 2 a 3 colaterales amielínicas cortas que terminan cerca del soma de origen (Fuentealba y Steriade, 2005; Martin, 2013).



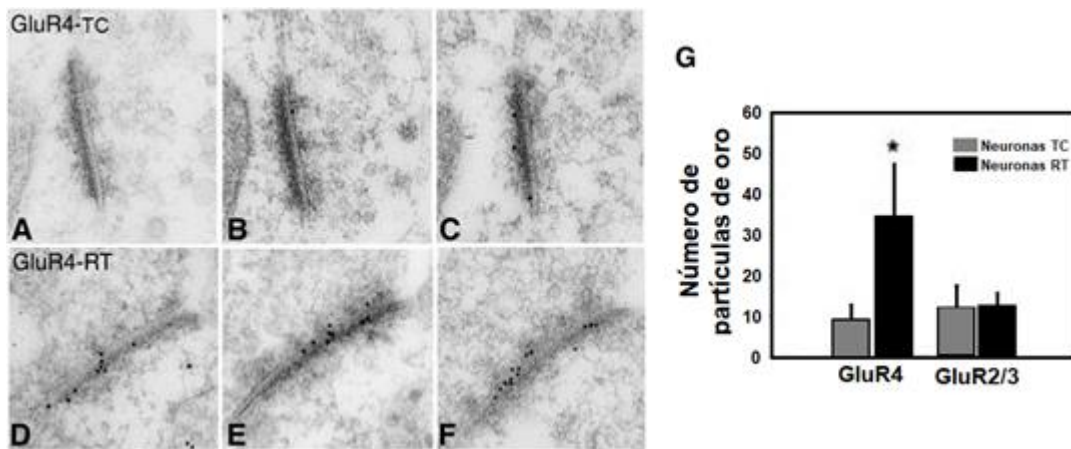
**Figura 6. Anatomía y localización del tálamo en el humano.** Nótese la ubicación del núcleo reticular talámico rodeando la parte anterior, lateral y dorso-ventral del tálamo, siendo una ubicación estratégica para el control de los demás núcleos talámicos. Modificado de Martín, 2013.

Aproximadamente un 90% de las neuronas del núcleo reticular talámico hacen sinapsis con las neuronas tálamo-corticales en el tálamo, mientras que el 10% restante lo hacen con las neuronas de la red local también denominadas interneuronas locales, que regulan el flujo de información de las neuronas reticulares hacia las neuronas tálamo-corticales (véase Figura 5). Adicionalmente, las neuronas reticulares talámicas y las interneuronas locales reciben aferencias excitatorias desde la corteza cerebral. Mientras que las neuronas tálamo-corticales reciben información de la corteza cerebral y aferentes sensitivas provenientes de la médula espinal (véase Figura 7, Fuentealba y Steriade, 2005). Se ha descrito que existen hasta 3.7 veces más subunidades del receptor para glutamato tipo 4 (GluR4) en las neuronas del núcleo reticular talámico en comparación con las neuronas tálamo-corticales, por lo que las neuronas reticulares tienen una respuesta más potente ante los estímulos corticales, favoreciendo así la retroalimentación negativa generada por las neuronas reticulares (véase Figura 8; Golshani y cols., 2001).



**Figura 7. Circuito sináptico del núcleo reticular talámico con las neuronas tálamo-corticales.**

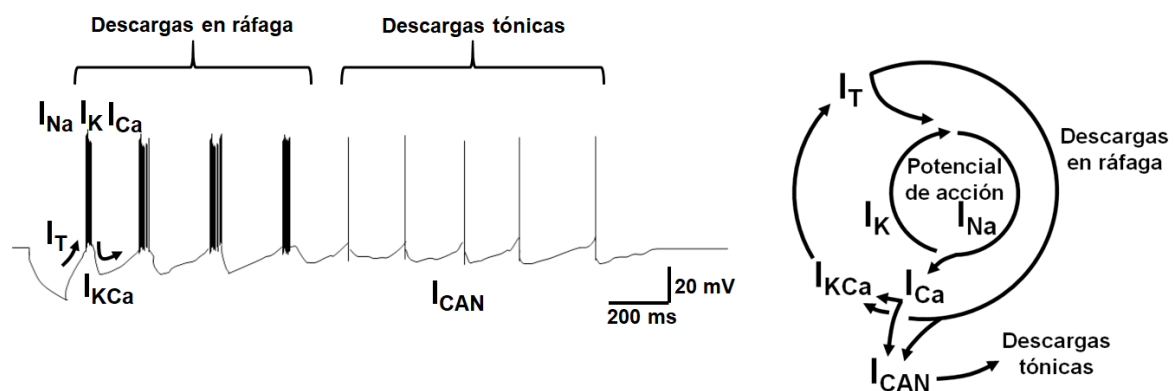
El núcleo reticular talámico está formado por dos tipos de neuronas GABAérgicas: las interneuronas locales (en morado) que envían axones a las neuronas tálamo-corticales (en azul) y las neuronas retículo-talámicas (en rojo) que envían axones a las neuronas tálamo-corticales y a las interneuronas locales. Las neuronas tálamo-corticales reciben aferencias de la corteza cerebral (en naranja) y somatosensitivas (en verde). Modificado de Fuentealba y Steriade, 2005.



**Figura 8. Micrografías electrónicas de las sinapsis tálamo-cortical (TC) y cortico-reticular (RT).** Se marcaron con partículas de oro a la subunidad GluR4 del receptor para glutamato (puntos color negro) en una sinapsis tálamo-cortical (A, B, C); y en la sinapsis de una neurona cortical con una neurona reticular talámica (D, E, F). Existen 3.7 veces más subunidades de GluR4 en las neuronas del núcleo reticular talámico en comparación con las neuronas tálamo-corticales (G), \* $P < 0.05$ . Modificado de Golshani y cols., 2001.

Las aferencias corticales a las neuronas tálamo-corticales generan ritmos de alta frecuencia, los cuales definen la alerta cerebral durante la vigilia, con frecuencias de 18 a 35 Hz (Contreras y Steriade, 1996). Por el contrario, cuando existe la activación paralela de las células del núcleo reticular talámico y de las neuronas de la corteza cerebral se producen oscilaciones de baja frecuencia de 0 a 4 Hz, esto es los husos típicos del sueño de ondas lentas (Contreras y Steriade, 1996).

Las neuronas del núcleo reticular talámico generan descargas oscilatorias o en ráfaga seguidos por descargas tónicas de un solo potencial de acción (Steriade, 2003). Las descargas en ráfaga son potenciales de acción de alta frecuencia debidos a la activación de corrientes de sodio y de potasio que se suman a espigas de bajo umbral generadas por las corrientes de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T, los cuales activan a su vez a corrientes de  $\text{Ca}^{+2}$  de alto umbral produciendo una corriente hiperpolarizante. Cuando la entrada de  $\text{Ca}^{+2}$  activa una corriente catiónica de entrada no selectiva, da como resultado la despolarización lenta y la generación de descargas tónicas de potencial de acción único (véase Figura 9; Bal y McCormick, 1993; Steriade, 2003).



**Figura 9. Esquema de la base iónica de las descargas en ráfaga y tónicas en neuronas del núcleo reticular talámico a partir de estudios realizados en preparación *in vitro*.** Las descargas en ráfaga son debidas a corrientes de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T ( $I_T$ ) que se suman a las corrientes de  $\text{K}^+$  ( $I_K$ ) originando corrientes  $I_{KCa}$ , las cuales a su vez activan corrientes de  $\text{Ca}^{+2}$  de alto umbral ( $I_{Ca}$ ) y de  $\text{Na}^+$  ( $I_{Na}$ ) produciendo la activación de corrientes despolarizantes. Cuando la entrada de  $\text{Ca}^{+2}$  activa una corriente catiónica de entrada no selectiva ( $I_{CAN}$ ), da como resultado la despolarización lenta y la generación de descargas tónicas de potencial de acción único. Modificado de Bal y McCormick, 1993.

#### **3.5 SINCRONIZACIÓN DEL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO CON LAS NEURONAS TÁLAMO-CORTICALES**

Las proyecciones del núcleo reticular talámico sincronizan la generación de oscilaciones de ritmo delta en las neuronas tálamo-corticales. Este ritmo se transfiere a la corteza cerebral donde se combina con oscilaciones lentas corticales (Tononi, 2005). Existen dos maneras en las cuales el núcleo reticular talámico sincroniza su actividad con las células tálamo-corticales, para la generación de las oscilaciones corticales durante el sueño de ondas lentas (Fuentealba y Steriade, 2005), esto es a través de:

1. La sincronización de redes de neuronas por medio de las sinapsis GABAérgicas (Steriade y cols., 1987; Huntsman y Huguenard, 2000).
2. Las sinapsis mediadas por conexiones eléctricas, principalmente a través de la conexina 36 (Cx36; Tononi, 2005).

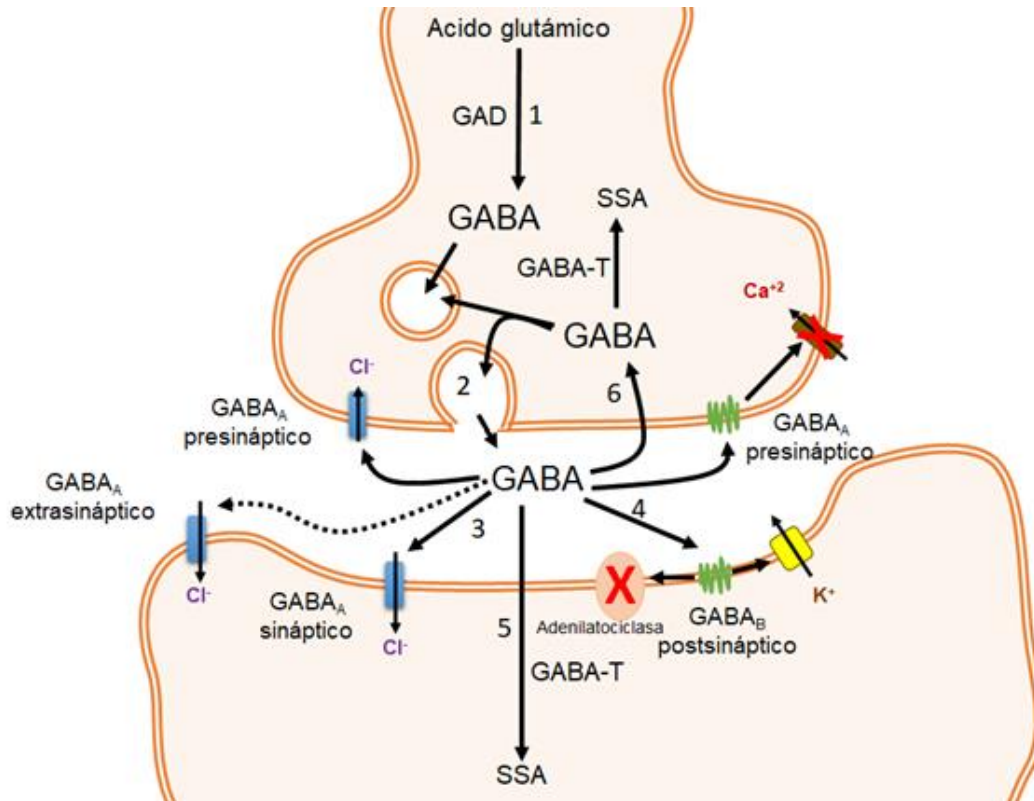
#### **Las sinapsis GABAérgicas**

El ácido  $\gamma$ -aminobutírico o GABA es un aminoácido  $\omega$  monocarboxílico, principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos (Cooper y cols., 2003). Se sintetiza a partir del ácido glutámico por acción de la enzima glutamato descarboxilasa (GAD, de sus siglas en inglés), se ha reportado dos isoformas, la GAD-65 con peso molecular de 65 KDa, que se encuentra predominantemente en los axones y las terminales sinápticas y la isoforma GAD-67 con peso molecular de 67 KDa, que se encuentra predominantemente en el soma neuronal (Sirvanci y cols., 2011). Posteriormente a su liberación calcio-dependiente al espacio sináptico, el GABA interacciona con sus receptores que pueden estar localizados en la neurona presináptica y postsináptica (Cooper y cols., 2003). Inmediatamente a su liberación en el espacio sináptico, el GABA es capturado por la neurona postsináptica, presináptica y los astrocitos, para ser metabolizado a succínico-semialdehído (SSA), reacción catalizada por la enzima GABA-transaminasa (GABA-T). Adicionalmente, el GABA puede ser recapturado por la neurona presináptica para ser destinado al reciclado en nuevas vesículas

sinápticas (véase Figura 10; Cooper y cols., 2003). Los tres receptores por los cuales el GABA ejerce sus efectos son:

1. El receptor GABA<sub>A</sub>: es un receptor ligado a un canal iónico de cloro, receptor ionotrópico, el subtipo de canal más frecuente en el cerebro. Contiene dos subunidades  $\alpha_{(1-6)}$ , dos subunidades  $\beta_{(1-3)}$  y una subunidad  $\gamma_{(1-3)}$ ,  $\delta$  o  $\varepsilon$  (Bloom, 2007; Alfaro, 2008).
2. El receptor GABA<sub>B</sub>: es un receptor metabotrópico ligado a una proteína G que inhibe a la enzima adenilatociclasa ( $G_i$ ), lo que a su vez inhibe los canales de  $Ca^{+2}$  y disminuye la liberación de GABA en la neurona presináptica. Adicionalmente, activa los canales de potasio, lo que hiperpolariza la membrana celular (Bloom, 2007; Alfaro, 2008).
3. El receptor GABA<sub>C</sub>: es un receptor ligado a un canal iónico de cloro formado por cinco subunidades  $\rho_{(1-3)}$ , está menos distribuido que los tipos A y B, localizándose principalmente en la retina, la médula espinal, el tubérculo cuadrigémino superior y la hipófisis (Polenzani y cols., 1991; Valverde, 2008).

Existen dos tipos de receptores para el GABA<sub>A</sub>, los receptores GABA<sub>A</sub> sinápticos, los cuales tienen una sensibilidad relativamente baja en rango milimolar para el GABA, por lo que presentan un tipo de inhibición fásica inactivándose en menos de 500  $\mu$ s; y los receptores GABA<sub>A</sub> extrasinápticos, que tienen una alta sensibilidad al GABA, y son tónicamente activados por bajas concentraciones de GABA en el espacio perisináptico durando más de 500  $\mu$ s activos (Farrant y Nusser, 2005; Meera y cols., 2011).



**Figura 10. Ilustración esquemática de una neurona GABAérgica.** 1: Síntesis de GABA a partir del ácido glutámico mediada por la enzima glutamato descarboxilasa (GAD). 2: Liberación calcio-dependiente del GABA al espacio sináptico. 3: Interacción con los receptores GABA tipo A ( $GABA_A$ ) presinápticos y postsinápticos (sinápticos y extrasinápticos), los cuales permiten la entrada de corrientes de cloro (canales en azul). 4: Interacción con los receptores GABA tipo B ( $GABA_B$ ) que inhiben a la enzima adenilato ciclasa (cruz roja) y de manera consecuente a los canales de calcio, además de activar a los canales de potasio (canales en amarillo). 5: Metabolismo de GABA a través de la enzima GABA-transaminasa (GABA-T) hacia el metabolito succínico-semialdehído (SSA). 6: Recaptura de GABA por la neurona presináptica, la cual puede destinarla al reciclado en nuevas vesículas o a su metabolismo por GABA transaminasa.  $Cl^-$ : ion de cloro,  $K^+$ : ion de potasio,  $Ca^{+2}$ : ion de calcio. Modificado de Cooper y cols., 2003.

El núcleo reticular talámico presenta oscilaciones las cuales se les atribuye a una secuencia de potenciales inhibitorios postsinápticos a través de sinapsis dendrodendríticas de tipo GABAérgicas, que inician en cualquier punto del núcleo reticular talámico extendiéndose a las interneuronas locales y a las tálamo-corticales (Steriade y cols., 1987; Huntsman y cols., 1999; Fuentealba y Steriade, 2005). Durante la actividad epileptiforme, estos potenciales inhibitorios disminuyen la sincronía tálamo-cortical, debido a la inhibición de las neuronas tálamo-corticales de la región ventrobasal del tálamo (Crunelli y Leresche, 2002). Se ha descrito que la inhibición de los receptores  $GABA_A$  tónicos presente en las

neuronas tálamo-corticales reduce las entradas sinápticas sensitivas desde la corteza cerebral, disminuyendo su respuesta ante estímulos externos, que a su vez induce una privación de la conciencia (Cope, 2005; Cope y cols., 2009).

#### **Rol de las sinapsis eléctricas en el tálamo**

Las neuronas retículo talámicas cuentan con uniones comunicantes dependientes de la conexina tipo 36 (Cx36; Landisman y cols., 2002). Estas uniones comunicantes favorecen la propagación de las espigas de bajo voltaje en las neuronas retículo-talámicas debidas a corrientes de  $Ca^{+2}$  tipo T desde sus dendritas, las cuales junto con las sinapsis GABAérgicas sincronizan las oscilaciones corticales durante el sueño de ondas lentas (Fuentealba y Steriade, 2005; Tononi, 2005).

Se ha mostrado que la corteza cerebral no es necesaria para la generación de las oscilaciones talámicas (Fuentealba y Steriade, 2005). Sin embargo, el núcleo reticular talámico es incapaz de generar las oscilaciones en ausencia de la corteza cerebral y el tálamo (Steriade y cols., 1987; Steriade, 2003).

Hay dos mecanismos propuestos para la terminación de estas oscilaciones:

1. La activación persistente de las corrientes de  $Ca^{+2}$ , que dan como resultado un periodo refractario relativo durante el cual la probabilidad de generar oscilaciones sincrónicas se reduce marcadamente (Bal y cols., 1995).
2. Desincronización de la actividad oscilatoria talámica, debido a potentes entradas corticales despolarizantes en las neuronas talámicas, lo que impide la generación de espigas de bajo umbral y por lo tanto dar lugar a la terminación de las oscilaciones (Timofeev y cols., 2001).

#### **3.6 EL NÚCLEO RETICULAR TALÁMICO EN LAS CRISIS DE AUSENCIA**

Los hallazgos en los últimos años indican que las crisis de ausencia son causadas por una disfunción en el circuito tálamo-cortical, que se caracteriza por el

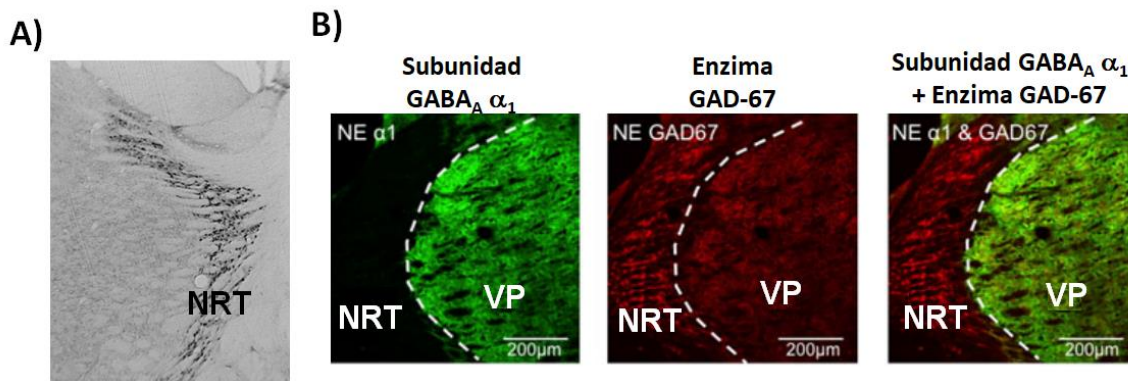
decremento en las aferencias hacia la corteza somatosensitiva debido a la inhibición mediada por receptores GABA<sub>A</sub> tónicos de las neuronas tálamo-corticales, localizados principalmente en los núcleos intralaminares rostrales y en el núcleo ventrobasal del tálamo (Steriade, 2003; Cope y cols., 2009). El aumento de la inhibición por los receptores GABA<sub>A</sub> tónicos es causado por la acumulación del neurotransmisor GABA, probablemente debido a una disfunción en su recaptura por los astrocitos (Pirttimaki y cols., 2013); por un aumento en la expresión de canales de Ca<sup>+2</sup> tipo T en las neuronas del núcleo reticular talámico (Crunelli y cols., 2012; Pirttimaki y cols., 2013); o bien por la disminución en la inhibición de los receptores GABA<sub>A</sub> fásicos en las neuronas piramidales de la corteza somatosensitiva, lo que las hace hiperexcitables (Crunelli y cols., 2012).

En la hipótesis centroencefálica se expone al tálamo como generador de las descargas espigas-onda, basándose en experimentos en donde la estimulación talámica genera descargas paroxísticas generalizadas, bilaterales y sincrónicas en la corteza cerebral (Avoli, 2012). Por el contrario, la inducción de descargas espigas-onda con la administración de penicilina en la corteza cerebral carente de entradas talámicas en el gato anestesiado (Pellegrini y cols., 1979); así como la descripción de un foco cortical en la capa V y VI de la corteza somatosensitiva en la región perioral en modelos genéticos de ratas con crisis de ausencia (Klein y cols., 2004). Estas evidencias apoyan el origen cortical de estas crisis, ya que es la corteza cerebral es la que inicia y sincroniza las descargas espigas-onda antes de que estos paroxismos alcancen a los núcleos talámicos (Meeren y cols., 2005).

Estudios experimentales *in vivo* e *in vitro* muestran que el núcleo reticular talámico es una estructura crucial implicada en la génesis de las descargas espiga-onda, siendo las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular las que operan como marcapaso al inhibir las neuronas tálamo-corticales durante las crisis de ausencia (Avanzini y cols., 1992). Con la administración de cadmio, un ion que bloquea las corrientes de Ca<sup>+2</sup> tipo T, en el núcleo reticular talámico disminuyen significativamente las descargas espiga-onda, lo que apoya la hipótesis del núcleo reticular talámico como un generador de las crisis de ausencia (Avanzini y cols.,

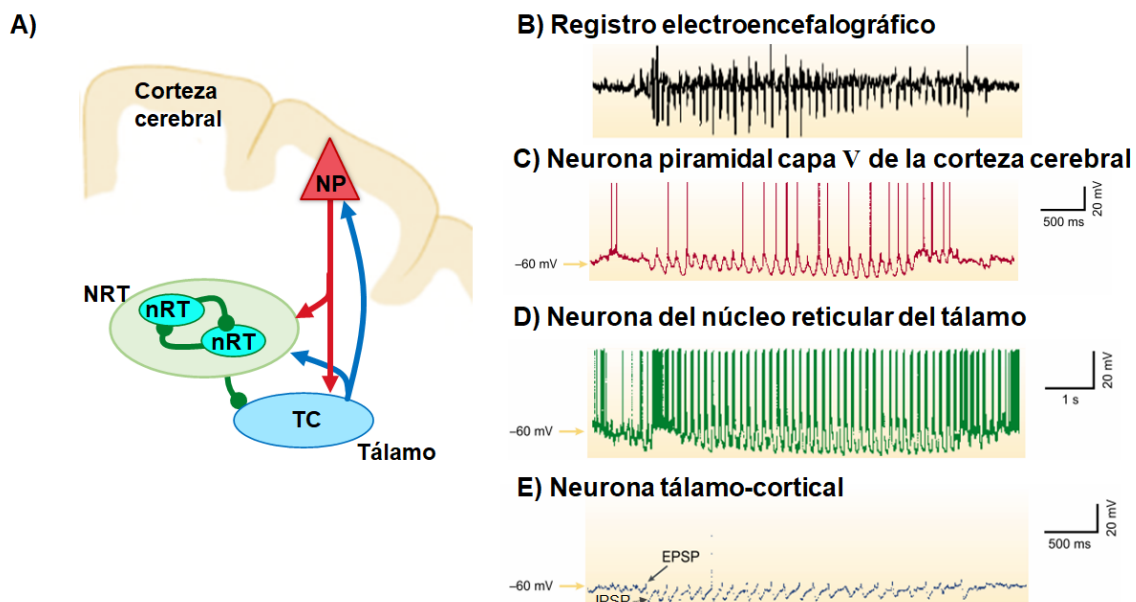
1992; Avoli, 2012). Adicionalmente, se ha reportado en los modelos genéticos en rata con crisis de ausencia la pérdida de la función del transportador de GABA tipo 1 (GAT-1), el cual se localiza exclusivamente en los astrocitos del tálamo en humanos y roedores, el cual es responsable de la actividad potenciada de los receptores de GABA<sub>A</sub> tónicos (Cope y cols., 2009; Pirrtimaki y cols., 2013).

En este mismo sentido, se ha obtenido un aumento de hasta un 37% en las expresión de la enzima GAD-67 en homogenizados del núcleo reticular talámico empleando inmunohistoquímica en un modelo de ratón con crisis de ausencia comparado con el control sin crisis (Lin y cols., 1999). Así mismo, en el ratón Stargazer, otro modelo de crisis de ausencia se ha reportado un incremento en las subunidades  $\alpha_1$  y  $\beta_2$  del receptor GABA<sub>A</sub> en el núcleo ventro-postero-medial del tálamo, el cual recibe aferencias del núcleo reticular talámico (Seo y Leitch, 2014). Estos datos sugieren que existe un aumento en la síntesis del neurotransmisor GABA, y que además este neurotransmisor participa en la inhibición de las aferencias corticales (Figura 11; Seo y Leitch, 2014).



**Figura 11. Distribución de la enzima GAD-67 y de la subunidad  $\alpha_1$  del receptor GABA<sub>A</sub> en el tálamo.** **A)** Localización inmunohistoquímica de neuronas GAD-67 positivas en cortes coronales del del tálamo de un ratón letárgico. Note que las neuronas GAD-67 positivas se concentran en el núcleo reticular del tálamo (NRT). **B)** La microscopía empleando inmunofluorescencia confocal que muestran la localización de la subunidad  $\alpha_1$  del receptor GABA<sub>A</sub> (en verde) y la enzima GAD-67 (en rojo) en el tálamo de un ratón sin epilepsia. Note que aun sin la patología el núcleo reticular del tálamo esta densamente poblado por neuronas que expresan la enzima GAD-67, y en el núcleo ventroposterior del tálamo (VP) en el que se concentra la subunidad  $\alpha_1$  del receptor GABA<sub>A</sub>. Modificado de Lin y cols., 1999, Seo y Leitch, 2014.

Mediante registros intracelulares de los componentes del circuito tálamo-cortical durante una descarga espiga-onda de un modelo de crisis de ausencia, la rata GAERS, se reportó que las descargas corticales que llegan al núcleo reticular del tálamo causan potenciales postsinápticos excitatorios (EPSP, de sus siglas en inglés) que aunado con las corrientes entrantes de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T generan una ráfaga de potenciales en meseta en el núcleo reticular del tálamo. Las descargas del núcleo reticular del tálamo y de la corteza cerebral provocan en las neuronas tálamo-corticales del complejo ventrobasal del tálamo una serie de potenciales postsinápticos inhibitorios (IPSP, de sus siglas en inglés) y excitatorios que raramente producen potenciales de acción (véase Figura 12; Crunelli y Leresche, 2002; Cheong y Shin, 2013, 2014).



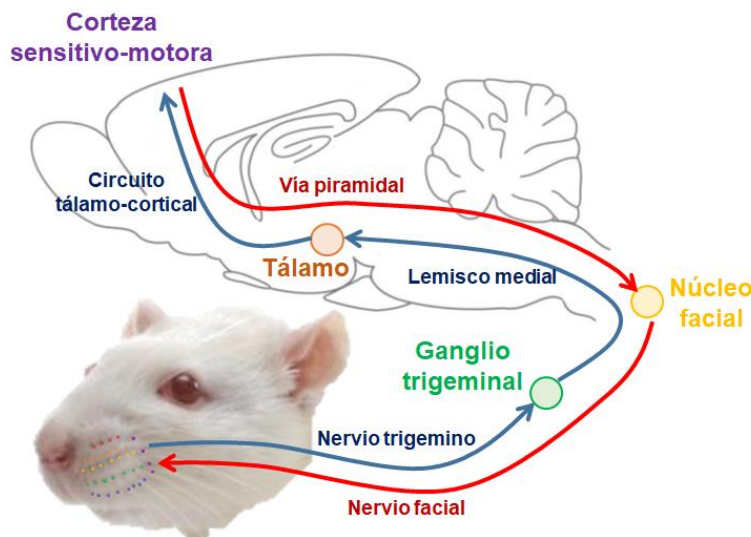
El tálamo sin duda desempeña un papel en el mantenimiento y la sincronización de las crisis de ausencia, siendo las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular talámico las que participan activamente durante las descargas espiga-onda corticales (Tononi, 2005).

#### **3.7 ESPASMOS FACIALES EN LAS CRISIS DE AUSENCIA**

En los pacientes con crisis de ausencia, además de que conductualmente presentan una mirada fija con pérdida de la conciencia, se pueden acompañar de automatismos en hasta un 76% de los casos (Sadleir y cols., 2009; Fisher y cols., 2017). Entre los automatismos más frecuentes están los faciales con un 65% de los casos, que incluyen: movimientos de tragar (47%), espasmos en la boca (37%), lamido (32%), muecas (7%), bostezo (6%), olfateo (3%), sonrisa (1%), entre otros (Sadleir y cols., 2009). Estos automatismos faciales se han reportado en animales de laboratorio como en la rata Long Evans al mismo tiempo que presenta descargas de espigas de alto voltaje en el electroencefalograma (Shaw y Liao, 2005); y en modelos animales de crisis de ausencia como la rata GAERS (de sus siglas en inglés Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg, Francia; Vergnes y cols., 1982), y la rata WAG/Rij (de sus siglas en inglés Wistar Albino Glaxo/Rijswijk de los Países Bajos; van Luijtelaaar y Coenen, 1986), donde los automatismos reportados son espasmos en las vibrisas y/o faciales (Shaw y Liao, 2005).

Las vibrisas difieren del pelaje ordinario al ser más largo y grueso, además de contar con folículos grandes muy vascularizados (Prescott y cols., 2011). Estas estructuras tienen funciones como son la localización de objetos, detección de movimiento, discriminación de texturas, vibración, forma y número de objetos, además de contribuir en la locomoción y en conductas sociales como el amamantamiento (Prescott y cols., 2011). Las vibrisas en las ratas y otros mamíferos, tienen una importante representación en la corteza somatosensitiva, la denominada corteza en barriles (Adibi, 2019).

Se ha propuesto que los espasmos faciales durante las crisis de ausencia se deben a la participación de la red tálamo-cortical-piramidal-facial, ya que son abolidos en su totalidad al lesionarse la corteza sensitivo-motora, persistiendo después de la lesión de la oliva inferior, el cerebelo y/o el hipocampo (Semba y Komisaruk, 1984). Es importante recordar que se ha descrito un origen de las descargas espiga-onda en el área de representación somatosensitiva de la cara, en particular la región perioral, una región cercana a la de las vibrisas (véase Figura 13; Meeren y cols., 2005). Por lo que la aparición de estos espasmos faciales nos muestra que se involucra el del circuito tálamo-cortical en este tipo de epilepsia generalizada.



**Figura 13. Esquema de las vías sensorio-motoras de las vibrisas de la rata.** Las vibrisas son estructuras sensitivas especializadas, por lo que abarcan un área importante en la corteza somatosensitiva. Se ha propuesto que los espasmos faciales durante las crisis de ausencia se deben a que participa la red tálamo-cortical-piramidal-facial. En el esquema las vías aferentes ascendentes se muestran como flechas en color azul, y las vías descendentes eferentes con las flechas con color rojo.

#### **3.8 CRISIS DE AUSENCIA Y DIFERENCIACIÓN SEXUAL**

En general, se considera que las crisis de ausencia son más comunes en el sexo femenino que en el masculino. Hasta dos tercios de los casos con epilepsia de ausencia infantil son niñas (Segan, 2018). En cambio, hay reportes como en la epilepsia de ausencia con mioclonías donde hay un predominio masculino (Segan,

2018). Existe evidencia clínica que sugiere que las hormonas sexuales masculinas, principalmente la testosterona, afectan la ocurrencia de descargas espiga-onda en hombres (Reddy, 2004). La incidencia de epilepsia en hombres es aproximadamente 15 % mayor, mostrando en estos pacientes una deficiencia de testosterona (Macphee y cols., 1988; Reddy, 2004). Sin embargo, estudios en modelos animales de crisis de ausencia típicas y atípicas no informan efectos dependientes del sexo sobre el fenotipo epiléptico (Herzog y Fowler, 2005). La mayoría de estas investigaciones no evalúan específicamente los efectos dependientes del sexo. Solo unos pocos estudios tienen como objetivo probar las diferencias relacionadas con el sexo. La preferencia por usar roedores machos en la mayoría de los experimentos está, en cierta medida, relacionada con variaciones cíclicas en la expresión fenotípica de las crisis de ausencia y su correlación con fluctuaciones en la hormona ovárica progesterona durante el ciclo estral (Van Luijtelaar y cols., 2001).

La testosterona es el principal andrógeno producido por los testículos de los machos. Más de 95 % de la testosterona es secretada a través de las células Leydig en los testículos y su liberación está controlada por el eje hipotálamo-hipófisis-células de Leydig (Braunstein, 2011). Las hormonas sexuales ejercen dos papeles principales, uno donde participan en la diferenciación sexual fenotípica y cerebral del individuo en un periodo crítico del desarrollo gestacional (efecto organizacional), y otro donde actúan sobre circuitos neuronales ya desarrollados afectando sus funciones (efecto activacional). Los cambios permanentes que se llevan a cabo en los periodos perinatales y posnatales en estructuras y funciones cerebrales pueden dar lugar a las diferencias en cuanto al número y la susceptibilidad a las crisis epilépticas, tanto en humanos como en los modelos animales (Horn y Buterbaugh, 1986). La mayoría de las investigaciones en torno a la diferenciación sexual se centran en estudiar el comportamiento variando la concentración de las hormonas en diferentes etapas del desarrollo. Sin embargo, no se han estudiado los efectos organizacionales del cerebro en la incidencia de las crisis de ausencia a la fecha.

La administración de testosterona en una dosis de 2 mg/Kg reduce significativamente el número de crisis de ausencia inducidas por pentilnetetrazol en ratas macho, pero no se obtuvo el mismo efecto en las ratas hembra (Schwartz-Giblin y cols., 1989). Por otro lado, se ha observado que la testosterona tiene un doble efecto dependiendo de la dosis y su administración. Se ha demostrado que la primera hora después de la administración de testosterona las descargas espiga-onda disminuyen en su número, aumentando en las siguientes dos horas (van Luijtelaar y cols., 2014). Se ha propuesto que las variaciones en las concentraciones de esteroides neuroactivos en el suero, afecta la excitación neuronal y por ende la ocurrencia de las crisis epilépticas (Herzog y Fowler, 2005). Por lo que la testosterona como tal, tiene un efecto anticrisis, pero su metabolito activo, posiblemente el androstanediol, tiene un efecto pro-crisis al ser un fuerte modulador del receptor GABA<sub>A</sub> (van Luijtelaar y cols., 2014). Adicionalmente, estudios en ratas macho castradas de la línea WAG/Rij, un modelo poligénico con crisis de ausencia, existe un aumento en la incidencia de las descargas espiga-onda, sugiriendo que la testosterona tiene un efecto protector contra las crisis de ausencia (Van Luijtelaar y cols., 1996).

#### **3.9 FARMACOTERAPIA EN LAS CRISIS DE AUSENCIA**

Los fármacos de elección utilizados en la terapéutica de las crisis de ausencia son la etosuximida, la lamotrigina y el valproato, todos actúan sobre los canales de Ca<sup>+2</sup> y sodio, disminuyendo la propagación de los potenciales de acción en la corteza cerebral (McNamara, 2007). Es importante resaltar que el mecanismo principal por medio del cual actúa la mayoría de los fármacos en las crisis de ausencia es a través de la inhibición de las corrientes de Ca<sup>+2</sup> tipo T, lo que muestra la importancia del núcleo reticular talámico en la generación de las crisis de ausencia. Sin embargo, no se ha dilucidado a la fecha el rol del GABA en la fisiopatología de las crisis de ausencia. La utilización de fármacos GABAérgicos en modelos genéticos de ratas con crisis de ausencia podrían dilucidar parte de su

fisiopatología y puede ser el inicio nuevas opciones terapéuticas para este tipo de epilepsia.

#### **Etosuximida**

La etosuximida es un fármaco introducido en 1958 para el tratamiento de las crisis de ausencia, perteneciente a la familia de las succinimidas, las cuales se caracterizan por tener un grupo de succinimida (2,5-pirrolidinadiona) en su estructura (Santavuori, 1983; McNamara, 2007).

La absorción de etosuximida es casi completa en el tubo digestivo, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas dentro de las primeras tres horas después de su administración por vía oral. No se fija a las proteínas plasmáticas y la concentración en el líquido cefalorraquídeo es similar a la plasmática, por lo que tiene una acción inmediata después de su administración (McNamara, 2007). La droga tiene un volumen de distribución promedio de 0.7 L/Kg de peso. Se elimina un 25% por vía renal, y el restante se metaboliza por vía hepática, siendo su metabolito principal el hidroxietilo, que es inactivo y eliminándose por la orina como glucuronato (McNamara, 2007).

La etosuximida reduce hasta en un 40% la amplitud de las corrientes de  $Ca^{+2}$  tipo T o de bajo umbral en las neuronas talámicas (Coulter y cols., 1989). Adicionalmente, se ha demostrado que etosuximida reduce la corriente de  $Ca^{+2}$  de tipo T de las neuronas talámicas e inhibe las oscilaciones paroxísticas (Richards y cols., 2003; Chen y cols., 2011), reduciendo hasta un 70 % la duración de las descargas espiga-onda en modelos genéticos de ratas con crisis de ausencia (Richards y cols., 2003).

#### **Mibefradil**

El mibefradil es un derivado tetralol considerado como un bloqueador de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T específico (Mishra y Hermsmeyer, 1994). Se empleó inicialmente como un fármaco indicado en el tratamiento de la hipertensión arterial

sistémica y para la angina de pecho crónica por su acción vasodilatadora, sin activación neurohormonal o acción inotrópica negativa. Sin embargo, debido las interacciones farmacocinéticas con otros fármacos metabolizados a través de los citocromos P-450 3A4 y 2D6 lo han llevado al retiro del mercado y de su uso clínico (Nakamura y cols., 1999; Martin y cols., 2000; De Paoli y cols., 2002).

El mibefradil se absorbe en forma rápida y completa luego de su administración por vía oral, con una biodisponibilidad de hasta un 70 %, la cual no varía si el fármaco se administra con los alimentos. Debido a que se metaboliza antes de alcanzar la circulación sistémica (efecto de primer paso), la biodisponibilidad del fármaco disminuye en los tratamientos prolongados. Se une en gran proporción a las proteínas plasmáticas (99 %), se metaboliza por hidrólisis (metabolito alcohólico) y además por oxidación por acción del citocromo P450. Su eliminación es biliar en un 75 % y urinaria en un 25 % (Martin y cols., 2000; McNamara, 2007).

#### **Gaboxadol**

Gaboxadol (4,5,6,7-tetrahidroisoxazolo (5,4-c) piridin-3-ol o THIP) es un agonista selectivo para los receptores GABA<sub>A</sub> tónicos uniéndose con mayor afinidad a la subunidad  $\delta$  (Ebert y cols., 1997; Cope, 2005), por lo que favorece el sueño de ondas lentas en ratas y en humanos (Faulhaber y cols., 1997). Sus niveles plasmáticos máximos se alcanzan a los 30 minutos después de su administración por vía oral, eliminándose del plasma de 1.5 a 2 horas, la cual se lleva a cabo por vía renal (Schultz y cols., 1981).

En las crisis de ausencias, la administración sistémica de gaboxadol aumenta la duración de las descargas espiga-onda de manera dependiente de la dosis, debido un aumento de la inhibición tónica de los receptores GABA<sub>A</sub> en el núcleo reticular talámico, además actúa también sobre las neuronas tálamo-corticales (Fariello y Golden, 1987; Cope y cols., 2005).

#### **Bicuculina**

La bicuculina es un alcaloide de isoquinolina antagonista competitivo de los receptores GABA<sub>A</sub> tónicos. Fue identificado inicialmente en 1932 en extractos de plantas y se ha aislado de la *Cucullaria dicentra*, la *Fungosa adlumia*, la *Fumariaceae spp*, y la *Corydalis spp* (Ma y cols., 2014). La administración de bicuculina bloquea la acción inhibitoria de los receptores GABA<sub>A</sub>, provocando focos hiperexcitables en el encéfalo semejantes a la epilepsia. En cuanto a las crisis de ausencia, se ha demostrado que la inhibición del receptor GABA<sub>A</sub> por la bicuculina aumenta los potenciales en ráfaga en respuesta a la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> (Bal y cols., 1995a; Ma y cols., 2014). La bicuculina tiene una vida media de 1.6 h posterior a su administración por vía oral. El bloqueo de los receptores GABA<sub>A</sub> directamente en las neuronas tálamo-corticales en modelos animales de crisis de ausencia, aumenta la frecuencia de las descargas espigonda en los registros electroencefalográficos (Crunelli y cols., 2012). Lo que soporta el rol del núcleo reticular del tálamo en las crisis de ausencia.

#### **3.10 MODELOS ANIMALES DE LAS CRISIS DE AUSENCIA**

La disponibilidad de modelos animales de epilepsia brinda una oportunidad para investigar sus mecanismos fisiopatológicos. La comprensión de los mecanismos epileptogénicos proporciona el marco conceptual necesario para la creación de nuevas opciones terapéuticas.

Actualmente existen dos tipos de modelos animales de crisis de ausencia: los inducidos farmacológicamente y los genéticos. Entre los modelos farmacológicos se encuentran los inducidos por la administración de dosis bajas de pentilenetetrazol, por la administración de 5 a 10 mg/Kg de gaboxadol o por la administración sistémica de AY-9944 (1,4-bis-[2-clorobenzilaminometil]-ciclohexano diclorhidrato), un inhibidor de la biosíntesis de colesterol que produce crisis atípicas de ausencia (Eguibar y Cortés, 2010a).

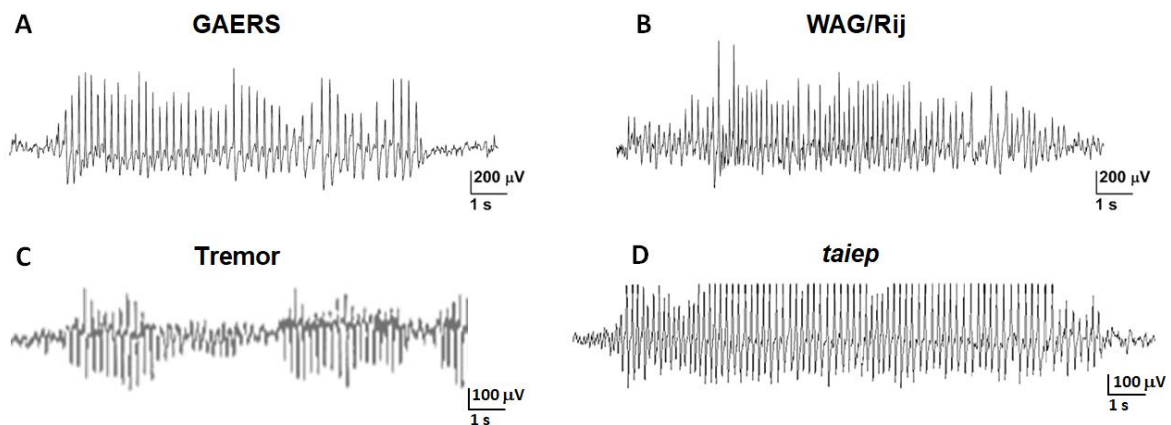
El hecho de que las crisis de ausencia en humanos se caracterizan por ser impredecibles y espontáneas, hace que los modelos genéticos sean una herramienta relevante para el estudio de esta patología. Existen modelos con este tipo de epilepsia en ratones donde la mutación es unigénica (Eguibar y Cortés, 2010a), como:

- Ratón letárgico: presenta una alteración en el cromosoma 2, afectando a la subunidad  $\beta_4$  del canal de  $\text{Ca}^{+2}$ . El ratón muestra crisis motoras, descargas corticales de tipo espiga-onda, además de letargo y ataxia (Burgess y cols., 1997).
- Ratón Stargazer: presenta una mutación en el cromosoma 15, que codifica para la subunidad  $\gamma_2$  del canal de  $\text{Ca}^{+2}$ , que provoca ataxia, cabeceo y descargas de tipo espiga-onda (Letts y cols., 1998).
- Ratón Tottering: presenta una mutación en el cromosoma 8 codifica para la subunidad  $\alpha_1$  del canal de  $\text{Ca}^{+2}$ ; el animal presenta ataxia, crisis motoras y descargas espiga-onda (Fletcher y cols., 1996).
- Ratón Leaner: presenta una mutación en el cromosoma 8 que codifica para la subunidad  $\alpha_1$  del canal de  $\text{Ca}^{+2}$ , que ocasiona ataxia severa y descargas corticales tipo espiga-onda; el animal muere al destete debido a sus alteraciones del sistema nervioso central (Noebels, 1984).
- Ratón Mocha: una mutación en el cromosoma 10 que modifica la subunidad  $\delta$  del complejo de involucrado en el transporte intracelular de proteínas asociadas con el lisosoma. Esta alteración causa ataxia, sordera, hiperactividad y descargas corticales espiga-onda (Sarkisian, 2001).
- Ratón Ducky: presenta una mutación del cromosoma 8 que codifica para la subunidad  $\alpha_2/\delta_2$  del canal de  $\text{Ca}^{+2}$ . Presenta ataxia, discinesia paroxística, alteraciones de la marcha y descargas corticales espiga-onda. Este ratón tiene una sobrevivencia de tan solo 35 días (Sarkisian, 2001).

Otros modelos genéticos en roedores con este tipo de epilepsia son aquellos que poseen mutaciones poligénicas como son: la rata GAERS (de sus siglas en inglés Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg, Francia; Vergnes y cols., 1982),

la rata WAG/Rij (de sus siglas en inglés Wistar Albino Glaxo/Rijswijk de los Países Bajos; van Luijtelaar y Coenen, 1986), la rata “tremor” (del en inglés temblor, de Kyoto, Japón; Serikawa y cols., 1987); así como la rata *taiep*, del acrónimo temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis descrita en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemerita Universidad Autónoma de Puebla, en Puebla, México (Holmgren y cols., 1989; Eguibar y Cortés, 2010b). Los cuatro modelos muestran descargas espiga-onda bien definida en la corteza cerebral (Figura 14).

Debo resaltar el hecho de que en la mayoría de los modelos genéticos de crisis de ausencia descritos a la fecha por mutación en un solo gen o por mutaciones poligénicas, existen alteraciones en los canales de  $Ca^{+2}$ , denotando la importancia de este canal en la fisiopatología de este tipo de epilepsia generalizada.



**Figura 14. Patrón característico de las descargas espiga-onda durante una crisis de ausencia en los cuatro modelos en ratas.** Descargas espiga-onda en **A)** una rata GAERS, **B)** una rata WAG/Rij, **C)** una rata tremor y **D)** una rata *taiep*. Modificado de Kovács y cols., 2014; Serikawa y cols., 1987; Eguibar y Cortés, 2010b.

### **La rata Genetic Absence Epilepsy from Strasbourg (GAERS)**

La rata GAERS surgió de las observaciones de Vergnes y cols. en 1982 ante fenómenos electroclínicos espontáneos y recurrentes en ratas, similar a la epilepsia del tipo de ausencia en el humano. Posteriormente, se seleccionó la cepa asignándole el nombre en inglés de Genetic Absence Epilepsy Rats from

Strasbourg (Marescaux y cols., 1992). En esta línea de rata de la cepa Wistar, los animales presentan crisis generalizadas recurrentes desde los 2 meses de edad que se caracterizan por descargas espiga-onda con una frecuencia de 7 a 11 Hz en el electroencefalograma (Figura 14A), las cuales se acompañan de una interrupción del comportamiento, mirada fija y movimientos espasmódicos en las vibrisas, finalizando bruscamente con un patrón electroencefalográfico normal (Vergnes y cols., 1982; Marescaux y cols., 1992).

En este modelo se ha descrito un aumento en la inhibición mediada por los receptores GABA<sub>A</sub> tónicos en las neuronas tálamo-corticales del área ventrobasal del tálamo, así como de un aumento de la concentración de GABA extracelular debido a una disfunción en la recaptura de GABA por los astrocitos (Crunelli y cols., 2012). Adicionalmente, se ha reportado una mutación homocigótica recesiva en el gen Cav3.2 del canal de Ca<sup>+2</sup> tipo T en el cromosoma 10q12 y mutaciones poligénicas en los genes 4, 7 y 8 (Serikawa y cols., 2015).

Las crisis de ausencia en las ratas GAERS tienen un perfil farmacológico caracterizado por incrementar la frecuencia y duración de las descargas espiga-onda con la administración de agentes pro-inflamatorios inespecíficos como lo es el lipopolisacárido (Kovács y cols., 2014), antagonistas del receptor para el glutamato como la carbamazepina (Wallengren y cols., 2005; Liu y cols., 2006), agonistas de los canales de Ca<sup>+2</sup> como la oxcarbazepina (Zheng y cols., 2009); y los agonistas del receptor GABA<sub>A</sub> como el gaboxadol y el muscimol (Vergnes y cols., 1984). Por otra parte, en este modelo las crisis de ausencia disminuyen con la administración de bloqueadores de los canales de Ca<sup>+2</sup> tipo T como la etosuximida (Dezsi y cols., 2013), o con los bloqueadores de los canales de sodio como el valproato de sodio (Elms y cols., 2013); así como inhibidores de la GABA-T como la fenitoína (Gurbanova y cols., 2006). Las crisis de ausencia también disminuyen tras la administración de xantinas como la cafeína y la adenosina (Germé y cols., 2015), y de antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub> como lo es la bicuculina (Yananli y cols., 2008).

#### **La rata Wistar Albino Glaxo/Rijswijk (WAG/Rij)**

En 1986, al estudiar las características del sueño-vigilia en 10 ratas de una cepa endogámica de la cepa Wistar, van Luijtelaar y Coenen detectaron dos tipos de descargas espiga-onda. El primer patrón de espiga-onda tuvo una frecuencia principal de 7.5 a 9.5 Hz, con espigas de polaridad positiva y con una duración de 3 a 4 segundos (Figura 14B), la cual se presentaban tanto en el sueño como en la etapa de vigilia, acompañándose de pérdida de la conciencia con interrupción del comportamiento, similares a las crisis de ausencia típicas en humanos (Coenen y Van Luijtelaar, 2003). El segundo patrón de espiga-onda tuvo una frecuencia principal en 8 Hz, con espigas con polaridad negativa y una duración de un segundo, producido de forma espontánea en la corteza cerebral, no acompañándose de cambios conductuales presentándose casi exclusivamente durante la etapa de vigilia, similares a las crisis de ausencia atípicas en los seres humanos (van Luijtelaar y Coenen, 1986; Serikawa y cols., 2015). Las crisis de ausencia en la rata WAG/Rij se presentan a partir de los 3 a 4 meses de edad y no muestran diferencias significativas entre los sexos.

Este modelo muestra una disminución del receptor GABA<sub>A</sub> fásico en la región somatosensitiva de la corteza cerebral debido a una mutación en la subunidad  $\gamma 2$  del receptor, similar a lo reportado en leucocitos de muestras sanguíneas de pacientes con crisis de ausencia (Wallace y cols., 2001; Crunelli y cols., 2012).

Las crisis de ausencia en las ratas WAG/Rij tienen un perfil farmacológico caracterizado por incrementar su frecuencia y duración de las descargas espiga-onda con la administración de agentes pro-inflamatorios inespecíficos como lo es el lipopolisacárido (Kovács y cols., 2014), por bloqueadores de canales de  $Ca^{+2}$  tipo L como el nifedipino (Durmus y cols., 2013); o bien por la administración de antagonistas de los receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> como lo es el pentilenetetrazol (Klioueva y cols., 2001). Las crisis de ausencia incrementan también por la administración de antagonistas de los receptores D<sub>2</sub> empleando al haloperidol (Citraro y cols., 2015); también la administración de antidepresivos tricíclicos como la clomipramina (Kovács y cols., 2010), los adrenérgicos  $\alpha_2$  como la clonidina

(Sitnikova y Luijtelaar, 2005), las hormonas esteroideas como la corticosterona y la pregnenolona (Citraro y cols., 2006; Tolmacheva y cols., 2012); y los agonistas opioides como la proencefalina, la proendorfina y la metencefalina (Lason y cols., 1992). Por otra parte, disminuyendo con la administración de bloqueadores de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T como la etosuximida (Sarkisova, 2011), los bloqueadores de los canales de sodio y  $\text{Ca}^{+2}$  como la lamotrigina (Celikyurt y cols., 2012), los inhibidores de la GABA-T como la vigabatrina (Russo y cols., 2011), las xantinas como la teofilina (Ates y cols., 2004), los antagonistas opioides como la naloxona (Lason y cols., 1992), así como por los inhibidores de recaptura de serotonina como es la fluoxetina (Citraro y cols., 2015) y los agonistas de las gonadotropinas como la menotropina (Samotaeva y cols., 2012).

#### **La rata tremor**

La rata tremor es una rata mutante homocigota (*tm/tm*), que se encontró en una colonia de ratas Wistar en Kyoto, Japón en 1985, presentando temblor generalizado a las 2 semanas de edad, desapareciendo gradualmente entre la sexta y octava semana de edad (Serikawa y cols., 1987, 2015). Adicionalmente, presenta una marcha tambaleante a partir de las 7 semanas que se intensifica con la edad. La patología de la rata es debida a una delección en el gen para la enzima aspartoacilasa en el cromosoma 11 de herencia homocigota recesiva, que causa la acumulación de ácido-N-acetilaspártico en el sistema nervioso central (Kitada y cols., 2000). La acumulación de ácido-N-acetilaspártico induce neuroexcitación y neurodegeneración con la formación de vacuolas acompañadas de hipomielinización en la protuberancia, el cerebelo, el tálamo y la sustancia blanca de la médula espinal a las 3 semanas de edad, afectando al caudado-putamen, corteza cerebral e hipotálamo hasta las 12 semanas de edad. Por lo anterior, la rata tremor se considera un modelo experimental para la enfermedad humana de Canavan (Kitada y cols., 2000; Serikawa y cols., 2015).

Inicialmente, la rata tremor fue descrita por presentar a las 5 semanas de edad crisis de ausencia con descargas espiga-onda de 5 a 7 Hz sincrónicas y

generalizadas en la corteza cerebral y el hipocampo acompañadas de inmovilidad (Figura 14C; Serikawa y cols., 1987). También se reportaron crisis tónicas con ondas rápidas de bajo voltaje en el electroencefalograma (Serikawa y cols., 1987, 2015). Ambos tipos de crisis incrementan en número con la edad. Se ha reportado la presencia de las crisis de ausencia en ratas tremor heterocigotas (*tm/1*), por lo que los cambios patológicos en el sistema nervioso de la rata no son necesarios para la aparición de las crisis de ausencia (Higashiguchi y cols., 1991). La presencia de crisis de ausencia sin la patología desmielinizante de la rata tremor se comprobó al producir en 1987 a la rata SER (de sus siglas en inglés Spontaneously Epileptic Rat) un doble mutante producto de la cruce de una rata tremor (*tm/tm*) con una rata alemana Zitter (*zi/zi*), un mutante para el gen de la atractina en el cromosoma 8, la cual, al igual que la rata tremor homocigota, presenta vacuolas con hipomielinización del sistema nervioso central (Serikawa y cols., 1987, 1991). Por lo que la rata doble mutante SER (*tm/1, zi/1*) conserva la epilepsia de la rata tremor y la patología neuronal de la rata Zitter (Serikawa y cols., 1987; Higashiguchi y cols., 1991).

En comparación con las ratas Kyoto:Wistar control, la rata tremor presenta un peso corporal menor, teniendo una esperanza de vida corta de 20 semanas edad para los machos y de 18 semanas de edad para las hembras (Serikawa y cols., 1987).

#### **La rata *taiep***

La rata *taiep* es un mutante de mielina que se obtuvo en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla de manera espontánea durante el proceso de cruce endogámica estricta (hermana/hermana) para producir una rata con una alta frecuencia de bostezo espontánea (Holmgren y cols., 1989).

*Taiep* es el acrónimo de los principales signos del síndrome motor progresivo que le caracterizan: el cual inicia con temblor de  $13.3 \pm 1.2$  Hz al destete aumentando su amplitud y disminuyendo en su frecuencia con la edad hasta  $5.7 \pm 0.6$  Hz a los

tres meses. Después se presenta ataxia locomotora que inicia a los cuatro meses de vida incrementando el área de apoyo y disminuyendo la velocidad de la marcha (Eguibar y cols., 2021), posteriormente se presentan episodios de inmovilidad tónica que inician a los 6.5 meses de edad y los cuales pueden presentarse de manera espontánea o inducirse al sujetar súbitamente a las ratas por la cola o por el tórax (Cortés y cols., 2005). Durante los episodios de inmovilidad los registros electroencefalográficos son similares al sueño con movimientos oculares rápidos (MOR) semejante a la narcolepsia con cataplejía (Cortés y cols., 2005; Eguibar y cols., 2014). Epilepsia tipo crisis de ausencia a partir de los 3 meses en machos y a los 6 meses en hembras, y parálisis de extremidades posteriores después de los 15 meses de edad (Holmgren y cols., 1989; Cortés y cols., 2005). La rata *taiep* tiene una sobrevivencia mayor de los 24 meses de edad (Duncan y cols., 2017; Foote y Blakemore, 2005).

Por lo anterior la rata *taiep* se ha caracterizado como un modelo de desmielinización por tubulinopatía por hipomielinización con atrofia de núcleos basales y cerebelo (H-ABC; Duncan y cols., 2017; Garduño-Robles y cols., 2020; Lopez-Juarez y cols., 2020), narcolepsia con cataplejía (Cortés y cols., 2005; Eguibar y cols., 2014) y epilepsia del tipo crisis de ausencia (Eguibar y Cortés, 2010a; Cortés y cols., 2022 artículo en revisión en *Epilepsia*).

#### A. Desmielinización debido a la leucodistrofia H-ABC

La rata *taiep* tiene una hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva del sistema nervioso central, sin que se afecte el sistema nervioso periférico (Duncan y cols., 1992; Lunn y cols., 1997). La mutación produce una alteración en los oligodendrocitos, afectando los mecanismos de transporte desde el retículo endoplásmico rugoso hacia la porción Cis del aparato de Golgi (Couve y cols., 1997). El trastorno induce la disminución generalizada de las proteínas de la mielina como son: la proteína básica de mielina (PBM), la proteína proteolípídica (PPL), la enzima 3'5'-nucleótido-cíclico fosfodiesterasa (NCF), la glicoproteína asociada a la mielina (GAM; Möller y cols., 1997), así como una disminución

progresiva de los lípidos extraídos de la mielina (Eguibar y cols., 2012). Este fenotipo se hereda de manera autosómica recesiva (Holmgren y cols., 1989).

En humanos, existe un grupo de enfermedades de la mielina llamadas leucoencefalopatías, las cuales se dividen en dos grandes grupos: 1) las adquiridas que agrupan patologías como la esclerosis múltiple, y las enfermedades desmielinizantes debidas a traumatismos, neuroinfecciones, toxinas y enfermedades autoinmunes; y 2) las leucoencefalopatías innatas o leucodistrofias, que son cualquier trastorno hereditario definido que afecte principalmente a la sustancia blanca del sistema nervioso central, independientemente de la afectación de los nervios periféricos (Ashrafi y cols., 2020).

En 1928 se realizó el primer reporte de un trastorno hereditario de la sustancia blanca parecido a la esclerosis múltiple denominada enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher. En ese entonces el conocimiento sobre las leucodistrofias era limitado, y no fue hasta el inicio del siglo XXI, donde el campo de las leucodistrofias se convirtió en un área de investigación en rápida evolución en la práctica clínica y en la ciencia experimental debido a los nuevos avances en la imagenología empleando técnicas como la resonancia magnética (MRI, de sus siglas en inglés magnetic resonance imaging), y la tomografía por emisión de positrones (PET, de sus siglas en inglés positron emission tomography). Adicionalmente, estudios de asociación de genoma completo (GWAS, de sus siglas en inglés genome wide association studies), así como estudios de modificación en un solo nucleótido o de grupos de genes han revolucionado el conocimiento de las enfermedades unigénicas, sus mecanismos neuro- y fisiopatológicos, permitiendo la identificación de pacientes con estos trastornos de la mielina (van der Knaap y Bugiani, 2017; Ashrafi y cols., 2020).

Anteriormente, las leucodistrofias se clasificaban en cuatro grupos: 1) la enfermedad de Pelizaeus-Marzbacher, 2) la enfermedad de Krabbe, 3) las leucodistrofias metacromáticas, y 4) las adrenoleucodistrofias (Ashrafi y cols., 2020; Eguibar y cols., 2021). En la actualidad, con el avance en los métodos

diagnósticos, se ha podido identificar nuevas patologías hereditarias de la mielina, por lo que se propuso en el 2017 una nueva clasificación con base en los mecanismos fisiopatológicos, donde se consideran los trastornos de la mielina, las astrocitopatías, las leuco-axonopatías, las microgliopatías y las leucovasculopatías, como se puede apreciar en la Tabla 2.

**Tabla 2. Clasificación de las leucodistrofias con base en los mecanismos fisiopatológicos.**

---

**Trastornos de la mielina**

- Hipomielinización
  - a. Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher
  - b. Neuropatía periférica, hipomielinización central con Síndrome de Waardenburg-Hirschsprung
  - c. Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher relacionada con la conexina 47 (Cx47)
  - d. Hipomielinización de estructuras tempranamente mielinizadas
- Desmielinización
  - a. Leucodistrofia metacromática
  - b. Deficiencia múltiple de sulfatasa
  - c. Enfermedad de Krabbe
  - d. Adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X
- Vacuolización de la mielina
  - a. Enfermedad mitocondrial con leucoencefalopatía
  - b. Fenilcetonuria
  - c. Enfermedad de Canavan
  - d. Trastornos selectivos del metabolismo de aminoácidos
  - e. Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth relacionado con la conexina 32 (Cx32)

---

**Astrocitopatías**

- a. Enfermedad de Alexander
- b. Leucoencefalopatía megalencefálica con quistes subcorticales
- c. Enfermedad relacionada al canal de cloruro 2 (CIC-2)
- d. Enfermedad de la sustancia blanca que desaparece
- e. Síndrome de Aicardi-Goutières
- f. Displasia oculodentodigital
- g. Neuropatía axonal gigante

---

**Leuco-axonopatías**

- a. Hipomielinización con atrofia de los núcleos basales y cerebelo (H-ABC)
- b. Hipomielinización con cataratas congénitas
- c. Trastornos degenerativos neuronales de inicio temprano
- d. Leucodistrofia relacionada al ARN-polimerasa III (Pol III)
- e. Leucoencefalopatía del tallo encefálico y de la médula espinal con lactato elevado
- f. Hipomielinización del tallo del encéfalo y la médula espinal con espasticidad de las piernas
- g. Neuropatía axonal gigante

---

**Microgliopatías**

- a. Trastorno relacionado al receptor del factor estimulante de colonias 1 (CSF-1R)
- b. Enfermedad de Nasu-Hakola

---

**Leuco-vasculopatías**

- a. Arteriopatía cerebral autosómica dominante con infartos subcorticales y leucoencefalopatía
- b. Arteriopatía cerebral autosómica recesiva con infartos subcorticales y leucoencefalopatía
- c. Arteriopatía relacionada con catépsina A con accidentes cerebrovasculares y leucoencefalopatía
- d. Angiopatía amiloide cerebral
- e. Leucoencefalopatía con calcificaciones y quistes

---

Modificado de Knaap y Bugiani, 2017

En los últimos años, se ha descrito un grupo de enfermedades neurodegenerativas altamente incapacitantes llamadas tubulinopatías, caracterizadas por la mutación en alguno de los genes de la alfa, beta o gamma tubulinas (Bahi-Buisson y cols., 2014). Las tubulinas son un grupo de proteínas que juegan un papel fundamental en el desarrollo del sistema nervioso central, por lo que diversas mutaciones en las tubulinas se han asociado a microgiria, lisencefalia, disgiria con alteraciones diversas en la sustancia blanca (vease Tabla 3; Chakraborti y cols., 2016).

Específicamente, la mutación en el gen de la tubulina  $\beta$ -4A (TUBB4A), una tubulina que se expresa preferentemente en los oligodendrocitos hasta en un 80%, y tan solo el 20% en las neuronas, se ha asociado con dos patologías cerebrales: la distonía-4 o distonía chilladora y la hipomielinización con atrofia de los núcleos basales y el cerebelo (H-ABC; véase Tabla 3; Van der Knaap y cols., 2002; Curiel y cols., 2017). Sin embargo, la distonía-4 no presenta las alteraciones características en los trastornos desmielinizantes.

Debido al defecto en los microtúbulos de los oligodendrocitos por la mutación que causa la desmielinización, la H-ABC se ha clasificado como una leucodistrofia leuco-axonopática (véase Tabla 2), las cuales se caracterizan por una mutación que afecta la interacción glía-axón produciendo desmielinización o hipomielinización de los axones neuronales (van der Knaap y Bugiani, 2017).

La H-ABC fue descrita por primera vez en el 2002, los pacientes clínicamente presentan espasticidad en el 100 % de los casos, disartria en el 93 %, distonía en un 88%, ataxia en un 87 %, parálisis espástica el 69 %, coreoatetosis en el 45 %, disminución de la agudeza visual o seguimiento visual deficiente en el 27 %, hipotonía muscular en un 20 %, epilepsia en el 18% de los pacientes, pérdida auditiva neurosensorial en el 14 %, e inestabilidad de la marcha un 10 % de los casos (Ferreira y cols., 2014; Curiel y cols., 2017; Romaniello y cols., 2018). Para el diagnóstico se requiere realizar una adecuada historia clínica y una exploración neurológica exhaustiva, para después correlacionarla con la resonancia magnética de cerebro, la cual se caracteriza por una disminución o ausencia en la mielina:

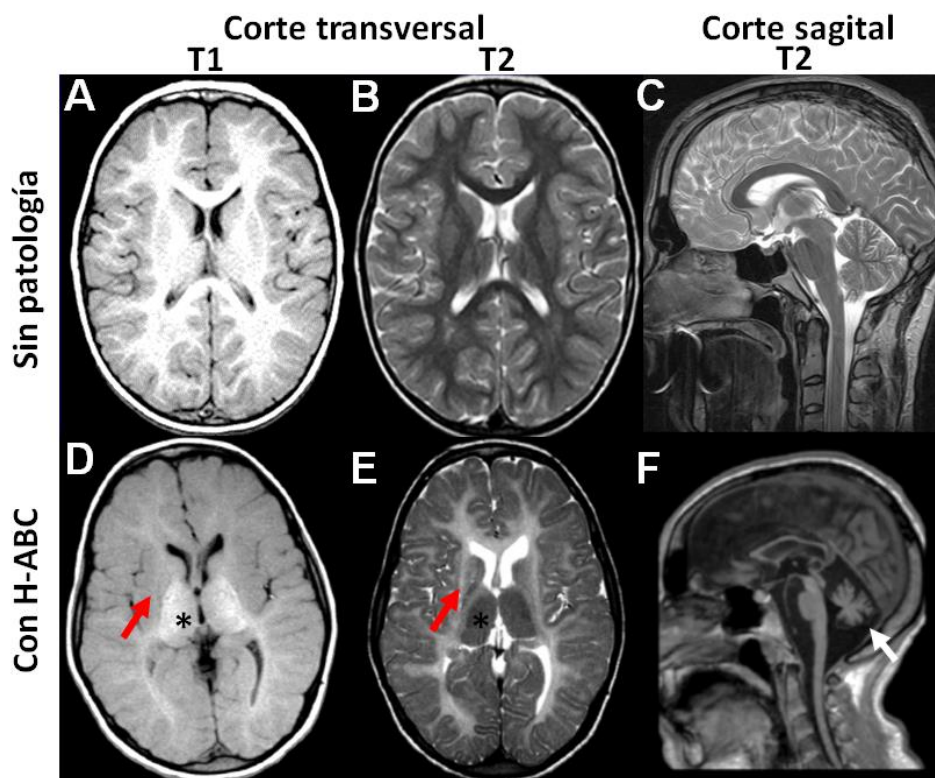
hiperintensidad en la modalidad T1 e hipointensidad en la modalidad T2. En estructuras como son el putamen-caudado o el cerebelo se muestra atrofia (Figura 15; Pizzino y cols., 2014; Garduño-Robles y cols., 2020). Posterior a la imagenología es necesario confirmar la patología con el diagnóstico genético, reportando la mutación del gen TUBB4A (Figura 16; Tonduti y cols., 2016; Ashrafi y cols., 2020).

**Tabla 3. Cuadro clínico y hallazgos estructurales por la mutación de los isotipos de tubulina.**

Isotipo de tubulina	Cuadro clínico	Hallazgos estructurales
<b>TUBB2B</b>	Asperger, trastorno de déficit de atención, estrabismo, epilepsia, escoliosis, retraso psicomotor, parto prematuro, dispraxia, sialorrea y ptosis,	Microcefalia, surcos y cisuras irregulares en la corteza cerebral, displasia o ausencia de núcleos basales, lisencefalia, agiria, agenesia de cuerpo caloso, hipoplasia de tallo cerebral, desorganización del tracto corticoespinal.
<b>TUBB3</b>	Retraso psicomotor, estrabismo, hipotonía axial, tetraplejia espástica, epilepsia, nistagmo multidireccional, espasticidad y dispraxia orofacial,	Microcefalia, microgiria, displasia del vermis cerebelar, hipoplasia del tallo cerebral, agenesia del cuerpo caloso, fusión e hipertrofia del núcleo caudado y putamen,
<b>TUBB2A</b>	Espasmos infantiles, descargas epileptiformes multifocales, dislalia y abasia, ataxia e hipotonía.	Microcefalia, disminución de la sustancia blanca, núcleos basales globulados e hipertróficos, atrofia de cuerpo caloso e hipoplasia del vermis cerebeloso.
<b>TUBB4A</b>	Disartria, distonía, ataxia, coreoatetosis, disminución de la agudeza o seguimiento visuales deficiente, hipotonía muscular, epilepsia, pérdida auditiva neurosensorial e inestabilidad de la marcha	Hipomielinización con atrofia de núcleos basales y cerebelo, atrofia del cuerpo caloso.
<b>TUBB5</b>	Retraso del lenguaje y psico-motor, cardiopatías.	Microcefalia, núcleos basales dismórficos con anomalías en la sustancia blanca y cuerpo caloso.
<b>TUBA1A</b>	Epilepsia, retraso psico-motor, atrofia del nervio óptico.	Microcefalia, polimicrogiria, síndrome perisilviano bilateral, núcleos basales dismórficos, hipoplasia del vermis cerebeloso y del tallo cerebral.
<b>TUBA8</b>	Epilepsia tónico-clónica del neonato e hipotonía.	Microcefalia, hipoplasia del nervio óptico, ausencia de cuerpo caloso, hipoplasia del tallo cerebral con pérdida de la demarcación ponto-medular.
<b>TUBA4A</b>	Signos de lesión de la neurona motora superior e inferior, esclerosis lateral amiotrófica (ELA)	Atrofia de la medula espinal.
<b>TUBA3E</b>	Retraso global del desarrollo.	Microlisencefalia.
<b>TUBG1</b>	No reportado	Microlisencefalia, hipoplasia del cuerpo caloso.

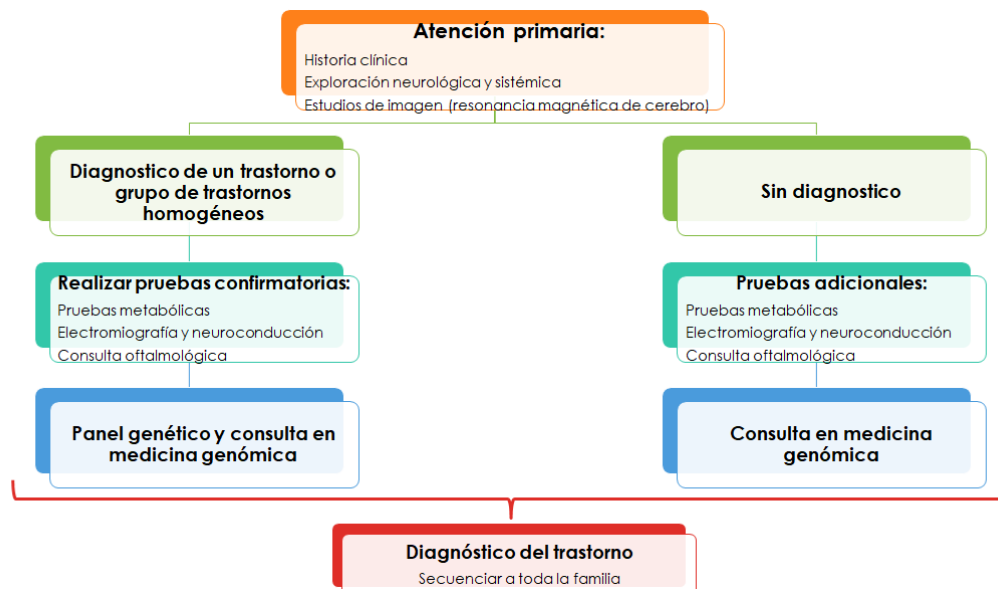
Modificado de Chakraborti y cols., 2016.

El uso de la imagen por resonancia magnética ha favorecido una descripción detallada de diversas alteraciones que se caracterizan por hipomielinización central asociado a procesos des- o dis- mielinizantes y correlacionados con diversas enfermedades neurológicas. Muchas de ellas es posible determinar si son mutaciones de *novo* o establecer su patrón de herencia genética. Los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) y los de mutaciones de un solo nucleótido han permitido correlacionar los cuadros neurológicos, las características en la neuroimagen evaluados por resonancia magnética con una diversidad de mutaciones genéticas que afectan distintas estructuras, vías metabólicas, componentes celulares y/o el ácido ribonucleico mitocondrial.



**Figura 15. Imagen por resonancia magnética (MRI) de pacientes con H-ABC.** En **A)** se observa una MRI de transversal cerebro en la modalidad T1 y en **B)** en T2, y en **C)** una MRI sagital de cerebro en modalidad T2 de un paciente sin patología neuronal. En **D)** se observa una MRI modalidad T1 y en **E)** modalidad T2 de un paciente de 6 años con H-ABC. Note el aumento de la hiperintensidad en la modalidad T1 y de la hipointensidad en T2 en el núcleo caudado y putamen (flecha roja) que indica una hipomielinización. Puede apreciarse la intensidad del tálamo que no está desmielinizado en ambas imágenes (\*). **F)** MRI de cerebro corte sagital en modalidad T2 de un paciente de 30 años de edad con H-ABC, observe la clara atrofia del cerebelo (flecha blanca). Modificado de Tonduti y cols., 2015.

Hasta la fecha, se han encontrado más de 40 mutaciones de la TUBB4A en pacientes con H-ABC (Chakraborti y cols., 2016). La mutación en p.Asp249Asn es la más común entre todas ellas, con una prevalencia aproximada del 60%, siendo también la mutación que nuestro grupo identificó en el primer paciente mexicano diagnosticado con H-ABC en el estado de Chiapas (Garduno-Robles y cols., 2020; Lopez-Juarez y cols., 2020). Las leucodistrofias siguen siendo difíciles de diagnosticar y más aún para enfermedades esporádicas como lo es la H-ABC que aún no son muy familiares para los clínicos. Las características de H-ABC que se encuentran en las imágenes de resonancia magnética junto con los signos clínicos dan una fuerte indicación de la enfermedad, pero el diagnóstico definitivo solo puede proporcionarse mediante el análisis genético (Figura 16; Ashrafi y cols., 2019). La necesidad del estudio genético para la confirmación es un obstáculo en países de bajos ingresos y por tanto la población real de pacientes afectados por H-ABC puede ser mayor. De acuerdo con la Fundación para la lucha contra H-ABC, hasta el 2019 se contaban con aproximadamente 200 casos diagnosticados con esta enfermedad, y se espera que el número vaya en incremento conforme se conozca más de la patología (Fundation to fight H-ABC, 2022).



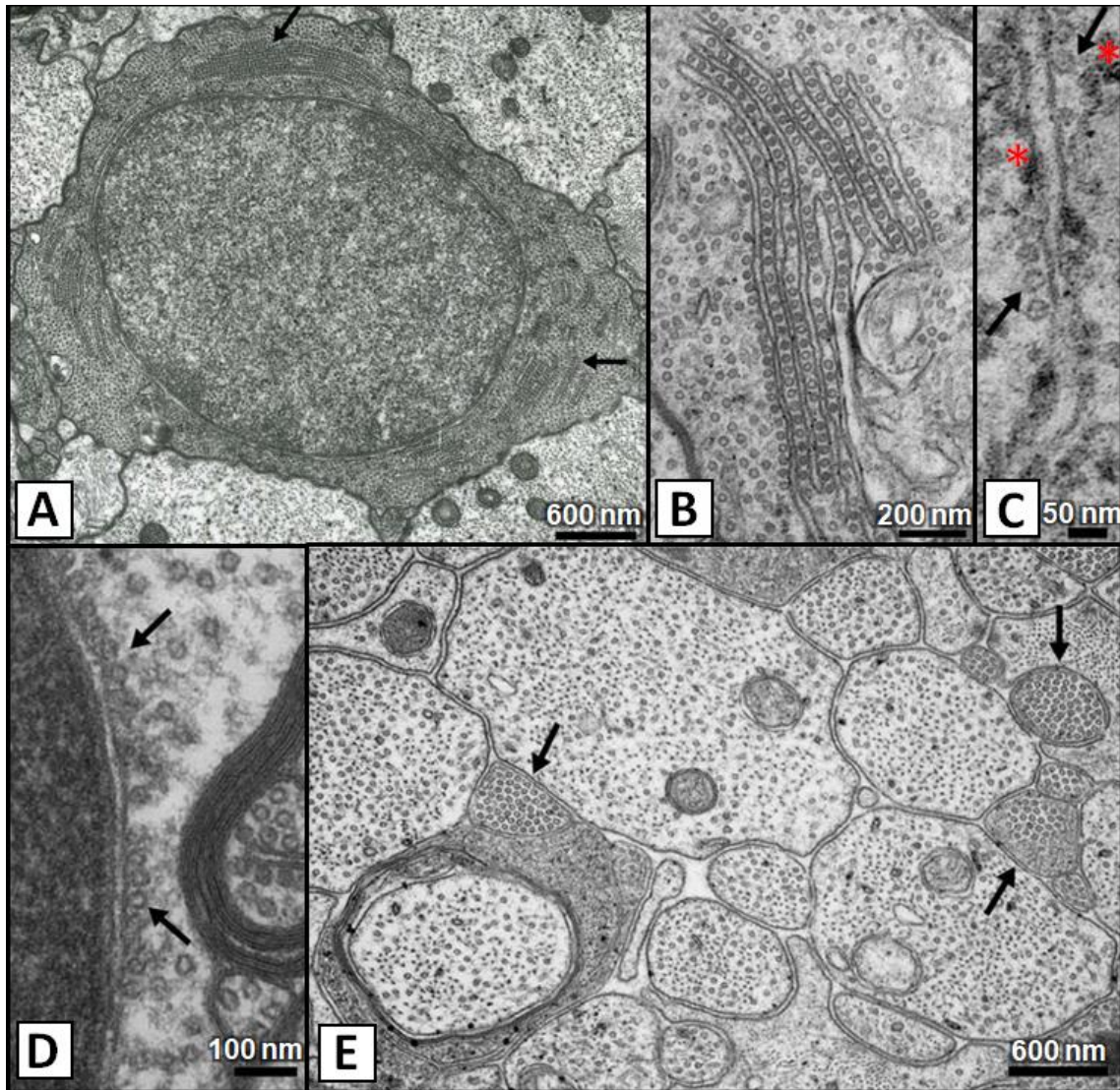
**Figura 16. Enfoque práctico para el diagnóstico de trastornos hereditarios de la sustancia blanca.** Los pacientes con trastornos neurológicos los cuales se sospeche enfermedad hipo- o desmielinizante por clínica e imagen por resonancia magnética o aquellos sin un diagnóstico claro se les debe practicar pruebas metabólicas y electrofisiológicas. Adicionalmente, confirmar el diagnóstico de leucodistrofia por diagnóstico genético. Una vez diagnosticadas se debe secuenciar a la familia. Tomado de Ashrafi y cols., 2019.

Recientemente, se ha mostrado que las ratas *taiep* tienen una mutación puntual en el gen TUBB4A en el cromosoma 9 (Garduño-Robles y cols., 2020), que causa la anomalía distintiva de la rata con la acumulación progresiva de microtúbulos en todo el cuerpo celular de los oligodendrocitos, principalmente en regiones donde la mielinización se mantiene activa, mostrando microtúbulos que aumentan inicialmente de forma dispersa por todo el citoplasma, y posteriormente con una predisposición a alinearse a lo largo de la envoltura nuclear externa y del retículo endoplásmico rugoso desplazando a los ribosomas. Incluso se ha reportado microtúbulos en exceso rodeando a los axones mielinizados (Duncan y cols., 2017; Garduño-Robles y cols., 2020; Figura 17).

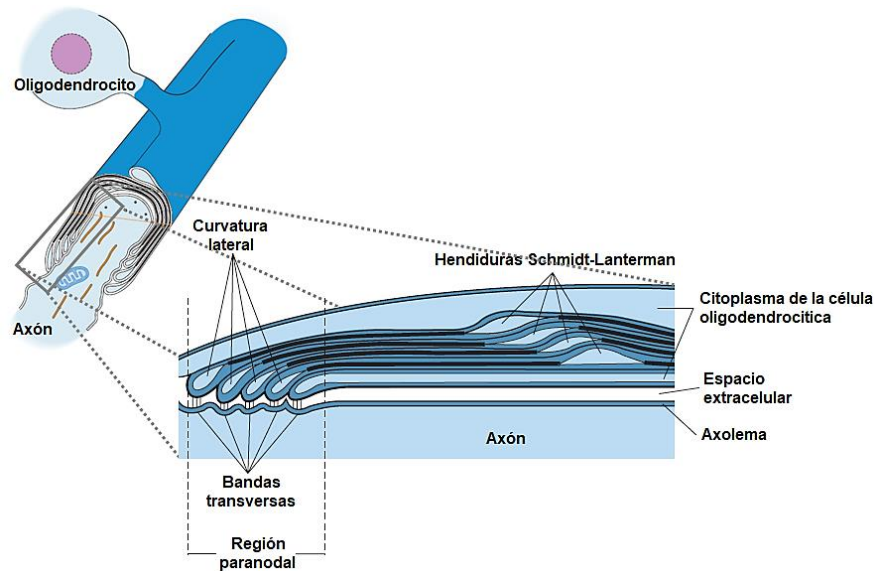
Fisiológicamente, los axones de las neuronas del sistema nervioso central están rodeados por el citoplasma de los oligodendrocitos. Los enrollamientos del citoplasma de los oligodendrocitos forman las curvaturas laterales, las cuales se anclan al axón por medio de las bandas transversales en la región paranodal (Hanig y Negi, 2018; Figura 18). En la rata *taiep* el acúmulo de microtúbulos en los procesos oligodendrocíticos causa la organización anormal de la mielina en los axones produciendo un perfil descompactado de la vaina de mielina (Krsulovic y cols., 1999; Figura 19).

Adicionalmente, en la rata *taiep* las imágenes por resonancia magnética de cerebro de 7 Teslas en la modalidad T2 muestran que el cuerpo calloso es más delgado, la capsula interna no es visible y existe atrofia del caudado-putamen que se observan mal definidos en la imagen, asociado a un cerebelo con atrofia (Garduño-Robles y cols., 2020, Alata y cols., 2021; véase Figura 20).

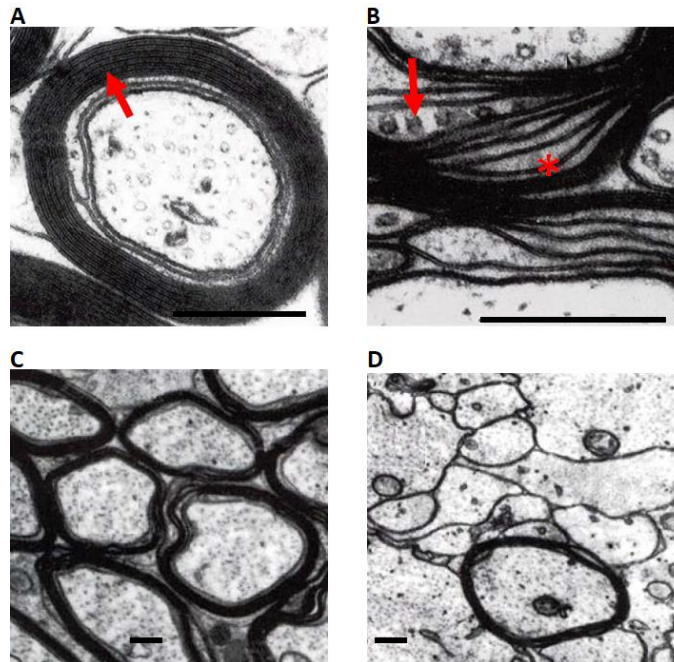
Los signos patológicos, los cambios histomorfológicos y por resonancia magnética, así como la mutación puntual del gen TUBB4A, confirman que la rata *taiep* es un modelo válido para el estudio de la leucodistrofia por hipomielinización y atrofia de núcleos basales y cerebelo (H-ABC) humana.



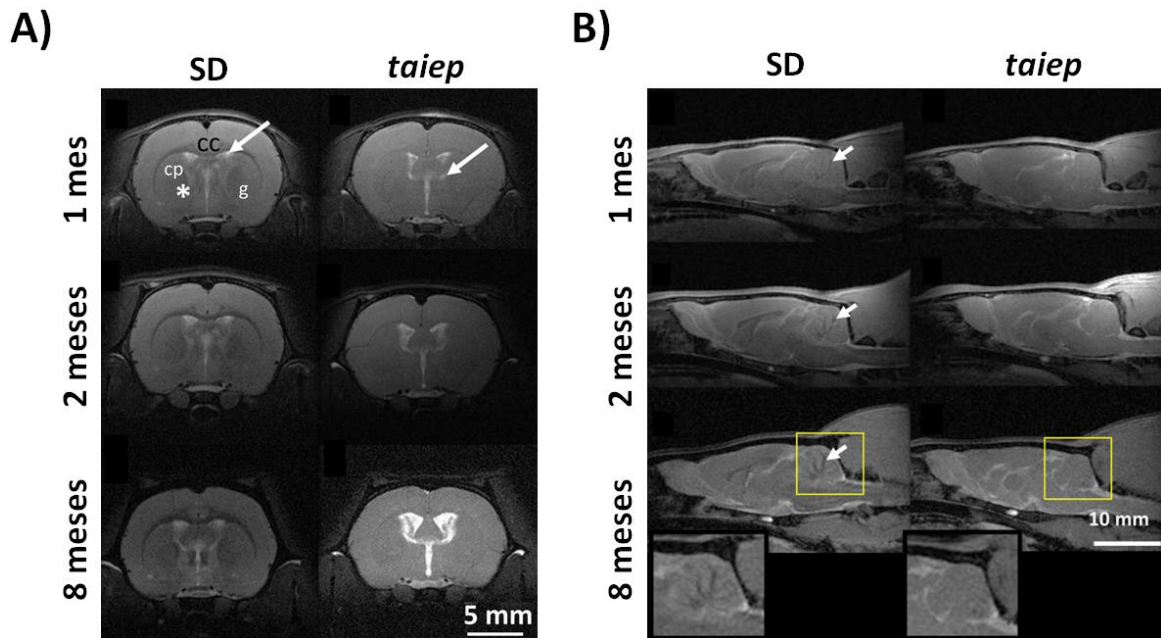
**Figura 17. Microscopía electrónica de la médula espinal de una rata *taiep*.** **A)** Los oligodendrocitos de la rata *taiep* contienen microtúbulos densamente empaquetados y, a menudo, están presentes en matrices asociadas al retículo endoplasmático rugoso (flechas). **B)** A mayor aumento, los detalles de estas matrices de retículo endoplasmático rugoso se pueden ver con microtúbulos alineados a su largo. **C)** Los microtúbulos (flechas) pueden desplazar a los ribosomas del retículo endoplasmático (\*). **D)** Los microtúbulos también están alineados a lo largo de la pared nuclear externa (flechas). **E)** Los procesos oligodendrocíticos frecuentemente se encuentran con colecciones de microtúbulos (flechas) alrededor de los axones de las neuronas. Note la diferencia de la densidad de microtúbulos en los axones neuronales y de los procesos oligodendrocíticos. Tomado de Duncan y cols., 2017.



**Figura 18. Estructura de la vaina de mielina en axones del sistema nervioso central.** Los axones de las neuronas del sistema nervioso central están rodeados por un tubo de citoplasma de los oligodendrocitos. Los enrollamientos del citoplasma de los oligodendrocitos forman las curvaturas laterales, las cuales se anclan al axón por medio de las bandas transversales en la región paranodal. Tomado de Hanig y Negi, 2018.



**Figura 19. Microscopía electrónica de axones mielinizados del nervio óptico.** **A)** Corte transversal de un axón mielinizado del nervio óptico de una rata Sprague Dawley como control. Obsérvese la organización de la mielina alrededor del axón (flecha). **B)** Corte transversal de axones mielinizados del nervio óptico de la rata *taiep* donde se muestra una alta infiltración de microtúbulos en los procesos de los oligodendrocitos (flecha), así como perfiles de mielina descompactados (asterisco). **C)** Corte transversal de un axón mielinizado del nervio óptico de una rata Sprague Dawley de 12 meses de edad. **D)** En la rata *taiep* los axones están desmielinizados. Barras a una escala = 0.25  $\mu\text{m}$ . Tomado de Krsulovic y cols., 1999.



**Figura 20.** Imagen de cerebro por resonancia magnética de 7 Teslas modalidad T2. **A)** Cortes coronales de cerebros de ratas Sprague-Dawley (SD) y ratas *taiep* a las edades de 1, 2 y 8 meses. A cualquier edad es posible discriminar el cuerpo calloso (cc), el caudado-putamen (cp) del globo pálido (g) y la cápsula interna (\*) en ratas SD, mientras que en la rata *taiep* dichas estructuras son indistinguibles. **B)** Cortes sagitales de cerebros de ratas SD y *taiep*. Se observa en la rata *taiep* un cerebelo hipointenso con atrofia difusa, comparado con la rata SD que muestra hiperintensidad en la materia blanca (flecha), en el recuadro amarillo se observa un acercamiento del cerebelo de ambas ratas a los 8 meses de edad. Tomado de Garduno-Robles y cols., 2020.

Es importante mencionar que recientemente se reportó un ratón mutante del gen TUBB-4A (*knock-in*), el cual replicó los signos neurológicos de H-ABC, sin embargo, tuvo una esperanza de vida de solo tan 40 días (Sase y cols., 2020); lo que hace a la rata *taiep* el primer y único modelo para el estudio de esta enfermedad, contando con una esperanza de vida hasta de 18 a 24 meses, que es igual a una rata sin la patología desmielinizante (Tabla 4; Eguibar y cols., 2021).

#### B. Epilepsia del tipo crisis de ausencia

Estudios electroencefalográficos previos muestran que las ratas *taiep* tienen descargas corticales con patrones tipo espiga-onda de frecuencias de 4 a 8 Hz, semejantes a las que se presentan en las crisis de ausencia (Eguibar y Cortés, 2010b; Eguibar y cols., 2014; Cortés y cols., 2022). Adicionalmente, existe un incremento en la frecuencia y duración de las crisis de ausencia en la fase de luz

del ciclo circadiano, siendo evidente en ratas macho a partir del mes de edad (Cortés y cols., 2022, sometido a consideración editorial), y en las ratas hembra hasta los 6 meses de edad teniendo un pico entre los 8 y 9 meses de edad (Cortés y cols., 2022, sometido a consideración editorial).

Las crisis de ausencia en la rata *taiep* tienen un perfil farmacológico semejante a la de otros modelos genéticos de crisis de ausencias y la epilepsia de ausencia humana, en las cuales se han descrito que disminuyen por la administración de ethosuximida, un bloqueador de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T (Callejas, 2009); por la lamotrigina, un bloqueador de los canales de  $\text{Na}^{+}$  y  $\text{Ca}^{+2}$  (Corona, 2012); por el valproato de sodio un bloqueador de los canales de sodio (Cortés y cols., 2022, manuscrito en preparación); por bloqueadores del canal de los  $\text{Ca}^{+2}$  e inhibidores de la recaptura del GABA como son la gabapentina y la pregabalina (Ibarra-Hernández, 2018); o por la bicuculina, un antagonista específico del receptor  $\text{GABA}_A$  tónico (Ibarra-Hernández, 2018). Las crisis son exacerbadas por la administración sistémica de pentilinetetrazol, un antagonista de los receptores  $\text{GABA}_A$  y  $\text{GABA}_B$  (Cortés y cols., 2022, manuscrito en preparación), o por el gaboxadol un agonista específico para el receptor  $\text{GABA}_A$  (Ibarra-Hernández, 2018).

**Tabla 4. Modelos animales de desmielinización.**

Modelo	Gen afectado	Neuropatología	Longevidad	Enfermedad humana
Ratón jimpy	Proteína proteolípídica 1	Desmielinización	21 días	PMD
Ratón shiverer	MBP	Desmielinización	120 días	–
Ratón twitcher	Galactocerebrosidasa	Desmielinización (SNC, SNP)	35-45 días	Enfermedad de Krabbe
Rata deficiente de mielina	Proteína proteolípídica 1	Desmielinización	21 días	PMD
Rata shaker Long Evans	MBP	Desmielinización y desmielinización	6-9 meses	–
Rata tremor	Aspartoacetilasa	Vacuolas con desmielinización	12 meses	Enfermedad de Canavan
Rata <i>taiep</i>	TUBB4A	Hipomielinización y desmielinización	>18 meses	H-ABC
Perro Shaking	Proteína proteolípídica 1	Desmielinización	23-24 días	PMD

PMD: Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher; MBP: Proteína básica de la mielina; H-ABC: Hipomielinización con atrofia de núcleos basales y cerebelo; SNC: sistema nervioso central; SNP: sistema nervioso periférico.

Tomado de Eguibar y cols., 2021

El perfil farmacológico de las crisis de ausencia de la rata *taiep* junto con las características electroencefalográficas de descargas espiga-onda mientras que el animal permanece inmóvil, ofrece a la rata *taiep* una fuerte validez predictiva (farmacológica) y aparente (signos clínicos) con la epilepsia del tipo de las crisis de ausencia humana que permite una exploración precisa de la fisiopatología de esta forma de epilepsia y para probar nuevas opciones terapéuticas.

Aún se desconoce las causas de la epilepsia de ausencia en la rata *taiep*, sin embargo, es importante mencionar que se ha reportado en las ratas WAG/Rij y GAERS la reducción en la anisotropía fraccional por tractografía de resonancia magnética en el cuerpo calloso en las fibras que interconectan la corteza somatosensitiva facial entre ambos hemisferios, esta disminución se interpreta como la disminución en la densidad de las fibras o en la mielinización de los axones (Chahboune y cols., 2009); Datos similares se han descrito en pacientes pediátricos con epilepsia del tipo de las crisis de ausencias con cambios en el cuerpo calloso y en la distribución asimétrica de los tractos de las fibras anteriores (Liang y cols., 2016). Adicionalmente, la presencia de crisis de ausencia en la rata homocigota tremor donde se han reportado hallazgos similares (Serikawa y cols., 1987). En este mismo contexto, pero en humanos, hay un reporte de caso de una paciente pediátrica de seis años diagnosticada desde el nacimiento con leucodistrofia, una patología desmielinizante, y que posteriormente se acompañó de crisis de ausencia (Dweikat y cols., 2014). Por lo tanto, está claro que la desmielinización está asociada a la expresión de las crisis de ausencia, y que probablemente en la rata *taiep* las crisis de ausencia se deban a la afectación del circuito tálamo-cortical por la patología desmielinizante subyacente, como se ha propuesto en el ser humano y en los otros modelos animales (Chahboune y cols., 2009). Estos resultados muestran que las ratas *taiep* son un modelo adecuado para el estudio de las crisis de ausencia.

#### 4. ANTECEDENTES

---

Estudios electroencefalográficos realizados en la rata *taiep* han mostrado que presentan actividad cortical espiga-onda, las cuales se presentan en todos los canales corticales con una propagación rostro-caudal. Este patrón de descargas fueron caracterizadas posteriormente por Eguibar y Cortés (2010b), como descargas corticales con un patrón espiga-onda con un rango de frecuencias de 4 a 8 Hz al mismo tiempo que la rata permanece conductualmente quieta, semejantes a las que se presentan en las crisis de ausencia en humanos y en los modelos genéticos de este tipo de epilepsia, como son las ratas GAERS y WAG/Rij (Vergnes y cols., 1982; van Luijtelaaar y Coenen, 1986; Posner, 2013).

Aún desconocemos la fisiopatología de las crisis de ausencia en la rata *taiep*. Sin embargo, se ha reportado que en ratas neonatas *taiep* un estímulo sincrónico en las raíces dorsales en la médula espinal lumbo-sacra, así como en las colaterales de Schaffer se producen varios potenciales postsinápticos excitatorios asincrónicos en las motoneuronas o en las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo (Bonansco y cols., 2004, 2007; Fuenzalida y cols., 2009). Por lo que es razonable proponer la existencia de una alteración en la transmisión de impulsos sincrónicos en el circuito tálamo-cortical que eviten la reverberación de este ensamblaje neuronal, tal como se propuso en el hipocampo (Fuenzalida y cols., 2009). La asincronía en los impulsos nerviosos también se ha propuesto como base de la alteración en la morfología y en el retraso de las ondas en los potenciales provocados auditivos (Roncagliolo y cols., 2000) o en el nervio óptico in vitro lo que altera el potencial de acción completo (Roncagliolo y cols., 2006).

En diversos estudios en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología han mostrado que las descargas espiga-onda en la rata *taiep* tienen un perfil farmacológico similar al el de las crisis de ausencia en humanos y de los modelos animales (Corona, 2012; Ibarra-Hernández, 2018; Castillo, 2018), lo que implica que los mecanismos de generación y mantenimiento de las descargas espiga-onda en la rata *taiep* son similares a la de los otros modelos de crisis de ausencia.

Adicionalmente, hemos mostrado que en la rata *taiep* la administración sistémica de un agonista específico del receptor GABA<sub>A</sub>, como es el gaboxadol, exagera las crisis de ausencia y que la administración sistémica de un antagonista específico del receptor GABA<sub>A</sub>, la bicuculina las disminuye (Ibarra-Hernández, 2018). Estos efectos pueden deberse a que el gaboxadol incrementa la inhibición GABA<sub>A</sub> tónica sobre las neuronas tálamo-corticales, disminuyendo de esta forma la información aferente hacia la corteza somatosensitiva. Mientras que la bicuculina bloquea la inhibición GABA<sub>A</sub> facilitando la entrada de información a la corteza somatosensitiva. Por lo que el receptor GABA<sub>A</sub> parece jugar un rol clave en la fisiopatología de las crisis de ausencia en la rata *taiep* impactando principalmente la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda (Ibarra-Hernández, 2018).

## 5. JUSTIFICACIÓN

---

Actualmente, las crisis de ausencia son consideradas por la Liga Internacional contra la Epilepsia como un problema de salud pública, por su alta prevalencia en la edad pediátrica, afectando cerca del 10 % de los pacientes pediátricos con epilepsia, y debido a su alto porcentaje de crisis fármacorresistentes que alcanza hasta un tercio de los pacientes (Posner, 2015; Fisher y cols., 2017).

Las hipótesis recientes y los estudios electroencefalográficos muestran que, si bien se conoce que el generador de las crisis en la región peri-oral de la corteza somatosensitiva, aún se desconocen los mecanismos que sustentan las descargas espiga-onda, probablemente residiendo en la actividad del ensamble tálamo-cortical. Con base en lo antes expuesto, siendo el tálamo el que desempeña un papel en el mantenimiento y la sincronización de las crisis de ausencia, y dado que las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular talámico son las que participan activamente en las descargas espiga-onda que se evalúan en la corteza cerebral mediante electroencefalografía, las cuales deben caracterizarse en cuanto a la edad, dimorfismo sexual y patrón de descarga.

La disponibilidad de la rata *taiep* en nuestro laboratorio como un modelo genético de crisis de ausencia, nos otorga la oportunidad para investigar los mecanismos fisiopatológicos y evaluar mejores opciones de tratamiento farmacológico en este tipo de epilepsia. Adicionalmente, existen pocos estudios en los que se observe de manera clara la importancia que tienen las hormonas sexuales esteroides sobre las crisis de ausencia. Específicamente en modelos animales existen muchas variantes con respecto a los resultados. El dimorfismo sexual que presenta la rata *taiep* nos brinda una oportunidad única para investigar la importancia de las hormonas sexuales tanto masculinas como femeninas en la incidencia de crisis de ausencia, dado que se ha reportado la dependencia de las variables fisiológicas como son el ciclo estral, la maduración y el declive sexual. Aunado a la manipulación farmacológica selectiva de estructuras del circuito tálamo-cortical específicas que permiten estudiar este circuito durante la generación de las descargas espiga-onda. Por lo que, el objetivo del presente trabajo es el de describir la evolución de las crisis de ausencia en la rata *taiep* en ambos sexos y en diferentes edades, así como el de estudiar la participación del núcleo reticular talámico en la generación de las crisis de ausencia en ratas macho *taiep* adultas (6 meses de edad).

## 6. HIPÓTESIS

---

H1: La epilepsia del tipo crisis de ausencia en la rata *taiep* incrementa con la edad, predominando en machos debido a los efectos organizacionales de la testosterona.

H2: El núcleo reticular del tálamo participa en la generación de las descargas espiga-onda en la rata *taiep* macho adulta, presentando mayores concentraciones de la enzima glutamato descarboxilasa o de los receptores GABA<sub>A</sub> en el tálamo comparado con las ratas control Sprague-Dawley.

## 7. OBJETIVOS

---

### 7.1 OBJETIVO GENERAL

Describir las crisis de ausencia en ratas *taiep* machos y hembras a lo largo de un año de vida y el rol de los andrógenos testiculares. Analizar de manera simultánea las descargas espiga-onda corticales y el potencial de campo en el núcleo reticular talámico en ratas macho de 6 meses de edad y el rol del receptor GABA<sub>A</sub> y de los canales de Ca<sup>+2</sup> tipo T en el circuito tálamo-cortical durante las crisis de ausencia.

### 7.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la frecuencia y duración de las crisis de ausencia, la latencia para que se presente la primera crisis, así como el espectro de potencia durante el primer año de vida de ratas *taiep* macho y hembras.
2. Analizar el efecto de la orquiectomía a edad neonatal y a edad adulta en la frecuencia y duración de las crisis de ausencia, así como la latencia para la primera crisis en ratas *taiep* macho de 3 meses de edad.
3. Establecer la frecuencia y duración de las crisis de ausencia, la latencia para que se presente la primera crisis, el espectro de potencia y la coherencia cerebral entre el núcleo reticular talámico y la corteza cerebral durante las descargas espiga-onda en ratas *taiep* macho de 6 meses de edad.
4. Señalar el efecto de la administración de las dosis de 25, 50 y 100 µg/µL de etosuximida administrada en el núcleo reticular talámico sobre la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia; así como la latencia para que se presente la primera crisis, el espectro de potencia y la coherencia cerebral entre el núcleo reticular talámico y la corteza cerebral durante las descargas espiga-onda en ratas *taiep* macho de 6 meses de edad.
5. Definir el efecto de la administración de 1, 2 y 4 µg/µL de mibefradil en el núcleo reticular talámico en la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia, además de la latencia para que se presente la primera crisis, el

espectro de potencia y la coherencia cerebral entre el núcleo reticular talámico y la corteza cerebral frontal durante las descargas espiga-onda en ratas *taiep* macho de 6 meses de edad.

6. Evaluar el efecto de la administración de 7.5, 15 y 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  de gaboxadol en el núcleo reticular talámico en la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia, determinando además la latencia para que se presente la primera crisis, el espectro de potencia y la coherencia cerebral entre el núcleo reticular talámico y la corteza cerebral frontal durante las descargas espiga-onda en ratas *taiep* de 6 meses de edad.
7. Especificar el efecto de la administración de 50, 100 y 200  $\text{ng}/\mu\text{L}$  de bicuculina en el núcleo reticular talámico en la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia, así como la latencia para que se presente la primera crisis, el espectro de potencia y la coherencia cerebral entre el núcleo reticular talámico y la corteza cerebral frontal durante las descargas espiga-onda en ratas *taiep* macho de 6 meses de edad.
8. Identificar la expresión de las enzimas glutamato descarboxilasa 65 (GAD-65) y del glutamato descarboxilasa 67 (GAD-67) en los tálamos y la corteza somatosensitiva de la rata *taiep* y compararla con las ratas control Sprague-Dawley adultas.
9. Indicar la expresión de los receptores GABA<sub>A</sub> en los tálamos y la corteza somatosensitiva de ratas *taiep* y compararla con las ratas control Sprague-Dawley de 6 meses de edad.

## 8. METODOLOGÍA

---

### 8.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los animales se mantuvieron bajo condiciones estándar de bioterio, con un ciclo luz-oscuridad de 12:12, con encendido de luces a las 0700, temperatura controlada de  $22 \pm 2$  °C y humedad relativa de 30 al 45 %. Los sujetos se mantienen en jaulas colectivas de acrílico transparente de 40 cm de alto, 30 cm de

ancho y 45 cm de largo, con dos a tres animales por jaula, con cambio de viruta de madera presurizada (Aspen chip, Nepco, Estados Unidos de Norteamérica) tres veces por semana. Los sujetos tuvieron libre acceso a alimento balanceado para roedores (Purina Mills 5012, Estados Unidos de Norteamérica) y agua purificada Ciel™ (Coca-Cola Co. México). Todos los procedimientos se realizaron siguiendo los códigos y leyes de la Norma Oficial Mexicana 062 para el cuidado y manejo de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) que son concordantes con los del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica (NIH de sus siglas en inglés; National Research Council Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011), y bajo la estricta supervisión del Médico Veterinario y Zootecnista certificado Omar Isidro Maldonado. El protocolo experimental fue sometido para su valoración por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (CICUAL-BUAP) a favor de la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez.

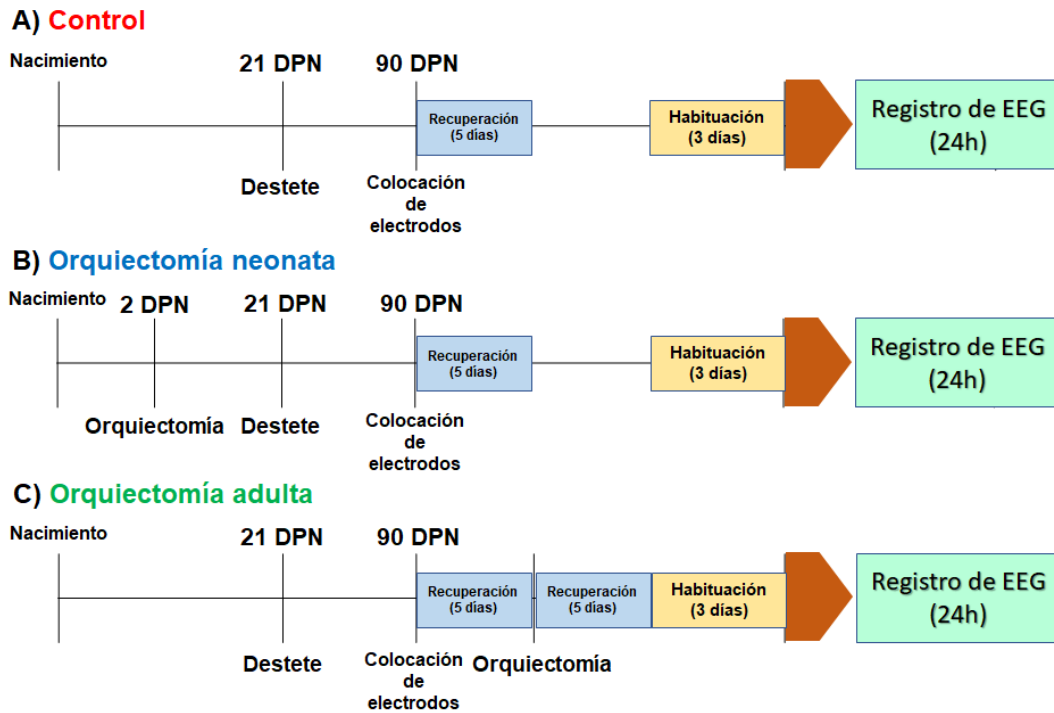
### **8.2 GRUPOS EXPERIMENTALES PARA EL ANÁLISIS DE LAS CRISIS DE AUSENCIA POR EDAD Y SEXO**

Los sujetos fueron ratas *taiep* macho y hembra de 3, 6, 9 y 12 meses de edad (n = 6 por grupo de edad y sexo). Se formaron grupos de acuerdo con la edad y el sexo. A cada sujeto se les realizó un registro electroencefalográfico de 24 horas de duración sincronizado con una videograbación realizada con una cámara marca Sony Hanycam modelo DCR-TVR260, Japón.

### **8.3 GRUPOS EXPERIMENTALES PARA EL ANÁLISIS DE LAS CRISIS DE AUSENCIA EN RATAS ORQUIECTOMIZADAS**

Se emplearon ratas macho *taiep* las cuales se dividieron en tres grupos (n = 6), un grupo control sin orquiectomía: adultos sin orquiectomía; un grupo con orquiectomía a los 2 días postnatales: orquiectomía neonata; y un grupo con

orquiectomía a los 3 meses de edad: orquiectomía adulta. Los sujetos de los tres grupos se les realizó a los 3 meses de edad un registro electroencefalográfico de 24 horas de duración sincronizado a una videograbación con una cámara marca Sony Hanycam modelo DCR-TVR260, Japón (véase Figura 21).

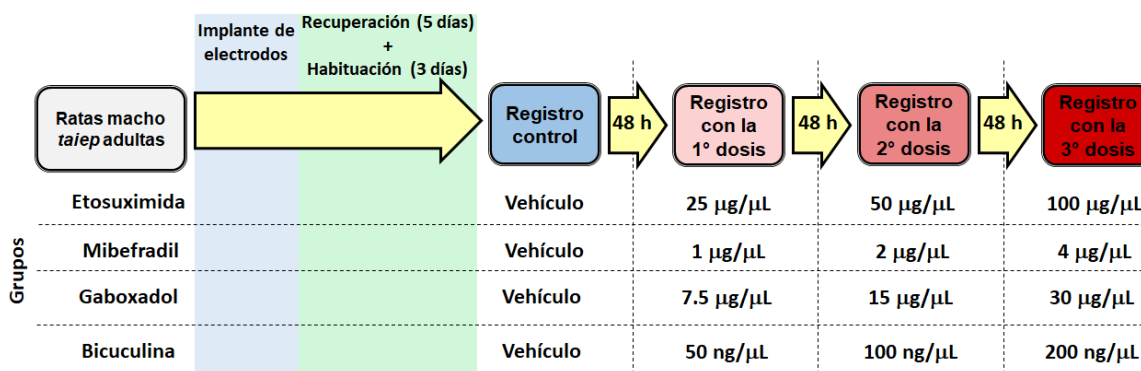


**Figura 21. Metodología para los grupos experimentales con orquiectomía.** Se emplearon ratas macho *taiep* las cuales se dividieron en 3 grupos: **A)** grupo control sin orquiectomía, **B)** grupo con orquiectomía a los 2 días postnatales (DPN), y un **C)** grupo con orquiectomía a edad adulta. Los tres grupos se les realizó un registro electroencefalográfico de 24 horas de duración a los 3 meses de edad.

#### **8.4 GRUPOS EXPERIMENTALES PARA EL ANÁLISIS DEL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO**

Los sujetos fueron ratas macho *taiep* de 6 a 7 meses de edad ( $n = 6$ ). Se formaron cuatro grupos como se muestra en el diagrama de la Figura 22. Los fármacos se administraron por vía intracraneal mediante una cánula de acero inoxidable de 0.24 mm de diámetro interior, y con 0.46 mm de diámetro exterior dirigida a cada núcleo reticular talámico rostral mediante una jeringa analítica de 5  $\mu$ L (marca Hamilton, California, EUA), utilizando como vehículo solución fisiológica (cloruro

de sodio al 0.9 %), ajustando la concentración a un volumen final de 1  $\mu\text{L}$ , y administrándose a una velocidad de 1  $\mu\text{L}$  por minuto. A cada grupo se les realizó un registro electroencefalográfico control, y tres registros con dosis crecientes de cada fármaco administrados con intervalos de 48 h entre las dosis. Los registros duraron 8 h y fueron sincronizados a una videograbación con una cámara marca Sony Hanycam modelo DCR-TVR260, Japón.



**Figura 22. Metodología para el registro EEG y grupos experimentales.** Se emplearon ratas macho *taiep* adultas. Se formaron cuatro grupos experimentales ( $n = 6$ ). Mediante cirugía estereotáxica se les implantó un electrodo profundo y una cánula en el núcleo reticular talámico rostral, así como electrodos en la corteza cerebral, los músculos de la nuca y en la órbita del ojo izquierdo. Se les administrará etosuximida (25, 50 y 100  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), mibefradil (1, 2 y 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), gaboxadol (7.5, 15 y 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) y bicuculina (50, 100, 200  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ). Posteriormente se realizaron cuatro registros electroencefalográficos de 8 h con videograbación: uno control, y tres registros con dosis crecientes de cada fármaco administrados cada 48 h.

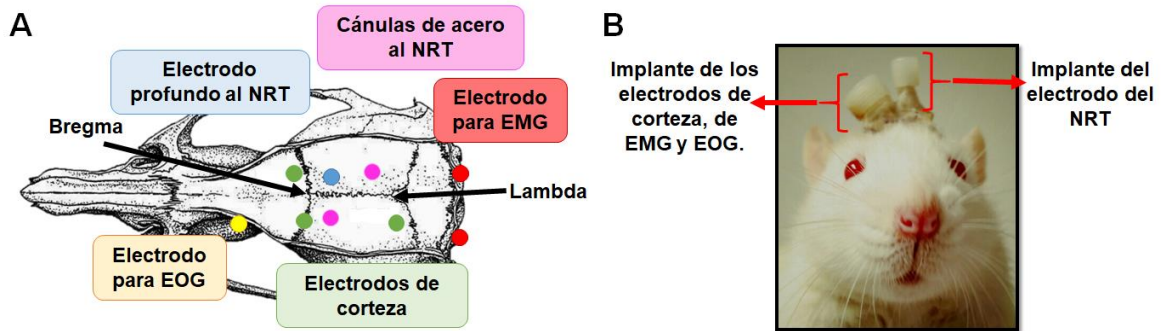
### 8.5 IMPLANTE DE LOS ELECTRODOS Y DE LA CÁNULA INTRACEREBRAL

Previa anestesia con 75 mg/Kg de ketamina (Anesket, Pisa) y 5 mg/Kg xilacina (Cheminova, México), los sujetos se montaron en un aparato estereotáxico tipo Kopf (Stoelting Co. Estados Unidos de América) en condiciones de asepsia y antisepsia empleando yodopovidona al 10% (Isodine™, Boehringer Ingelheim Promeco, S.A. DE C.V. México). Se realizó una incisión media a lo largo del cráneo con un porta-bisturí número 4 y hoja de bisturí número 20, se removió el periostio con una legra y se controló el sangrado de los huesos del cráneo mediante peróxido de hidrógeno y cera para hueso (Ethicon® Inc, Johnson & Johnson Medtech, Escocia).

Se implantó un electrodo bipolar a profundidad de platino trenzado recubierto de teflón en el núcleo reticular talámico rostral derecho, las coordenadas se obtuvieron del atlas de Paxinos y Watson (2007), siendo los ejes AP: -1.64 mm, ML: -1.64 mm, DV: -6 mm empleando la sutura bregma como referencia estereotáxica. Adicionalmente, a los sujetos a los que se les administraron los fármacos en el núcleo reticular del tálamo se les colocó dos cánulas de acero inoxidable dirigidas a cada núcleo reticular talámico rostral, una con los ejes AP: -6.6 mm, ML: -1.64 mm, DV: -7.8 mm con una inclinación AP de 35°, y otra cánula con los ejes AP: -1.64 mm, ML: +2.7 mm, DV: 6.1 mm con una inclinación ML de 10°.

Posteriormente, se realizaron trépanos mediante un motor de alta velocidad (Sanelec Santul, modelo STP-MOTO-A, México) para anclar tres electrodos de tornillo de acero inoxidable, a nivel de las cortezas cerebral frontal derecha e izquierda y occipital izquierda. Se implantaron dos electrodos de nicromio en los músculos de la nuca para el registro del electromiograma (EMG) y otro electrodo de nicromio implantado en la órbita derecha para registrar la actividad ocular (EOG). Todos los electrodos se unieron a un conector de seis polos y se fijaron al cráneo con acrílico dental (mdc dental México; véase Figura 23).

Después de la cirugía, los animales se mantuvieron con antibioticoterapia mediante la administración de 16 mg/Kg de clorhidrato de lincomicina y 32 mg/Kg de espectinomicina sulfato (Five-Lincopectin, Fivevent, México), y analgesia con 2 mg/Kg de flunixin meglumina (Napzin® Pisa, México) durante tres días por vía subcutánea (s.c.) en la región dorsal del cuello.



**Figura 23. A) Localización de los electrodos de registro y cánula para administración.** Las cánulas y los electrodos se colocaron mediante cirugía estereotáxica en el núcleo reticular talámico (NRT), corteza cerebral, músculos de la nuca y en la órbita del ojo. **B) Condiciones de los animales post-implante.** Note la localización del implante de los electrodos al cráneo con acrílico dental. EMG: electromiograma, EOG: electrooculograma.

### 8.6 ORQUIECTOMÍA

En ratas neonatas:

Se anestesiaron los sujetos por hipotermia al hacer una inmersión en hielo frappé en un riñón quirúrgico de aluminio. Se realizó una incisión en el área escrotal con una hoja de bisturí número 24, se exteriorizaron los testículos y se retiraron con ayuda de unas pinzas de punta fina tipo mosquito. Se afrontaron los bordes del epitelio y se adhirieron con cianoacrilato (Kola Loka®, México).

En ratas a edad adulta:

Se administro 75 mg/Kg de ketamina (Anesket, Pisa) y 5 mg/Kg de xilacina (Cheminova, México) para inducir anestesia. Se tricotomizó el área perigenital con una rasuradora eléctrica (Osner™, Estados Unidos de América) y se colocó a la rata en una tabla quirúrgica (Stoeling Co. Estados Unidos de América). Se desinfectó el área escrotal con una torunda de algodón empleando yodopovidona al 10% (Isodine™, Boehringer Ingelheim Promeco, S.A. DE C.V. México). Posteriormente se hizo una incisión en el saco escrotal, la cual se encuentra entre la región inguinal y el ano, para exteriorizar el testículo utilizando un porta-bisturí número 4 y hoja de bisturí número 20. Una vez expuesto el testículo se ligaron los

cordones neuro-vasculares y el conducto deferente utilizando una sutura absorbible “000” (Ethicon® Inc., Johnson & Johnson Medtech, Escocia) y se cortó el testículo verificando que no hubiese hemorragia. Se realizó el mismo procedimiento quirúrgico para el otro testículo. Una vez que se extrajeron ambos testículos se realizó una sutura con hilo de nicromio “000” (Ethicon® Inc., Johnson & Johnson Medtech, Escocia) en cada escroto y se limpió el área con yodopovidona. Posteriormente se le administró Meglumina de Flunixin (Napzin® Pisa, México 0.2mg/Kg como analgésico y 16 mg/Kg de clorhidrato de lincomicina y 32 mg/Kg de espectinomicina sulfato (Five-Lincopectin, Fivevent, México) como antibiótico durante cinco días.

### **8.7 HABITUACIÓN PRE-REGISTRO**

Los sujetos se habituaron tres horas por día durante tres días a las condiciones de registro con el implante conectado a un sistema móvil de libre rotación tipo “swivel”, con libre disposición de agua y alimento, en un cuarto sonoamortiguado, asilado eléctricamente y en condiciones medioambientales controladas.

### **8.8 REGISTRO**

Posterior a la habituación, se realizó un registro electroencefalográfico, electromiográfico y electrooculográfico a través del programa Harmonie V.2a (Stellate Co. Canadá) sincronizado con una video-filmación en un cuarto sonoamortiguado, iniciando el registro a las 0800 con previa administración del vehículo o del fármaco según corresponda al grupo. La señal se almacena en el disco duro de una computadora que opera bajo el sistema operativo Windows XP. La actividad de descarga tipo espiga-onda se analizó con el módulo Sensa del programa Harmonie en épocas de 10 segundos de duración (véase Figuras 24 y 25A).

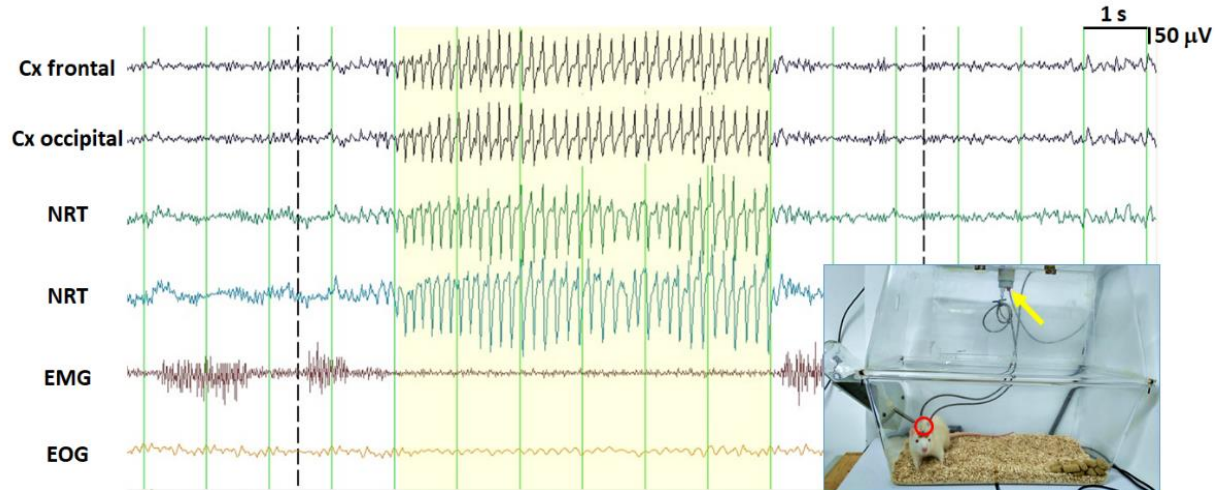
Los criterios para identificar las crisis de ausencia son:

1. La actividad de descargas espiga-onda debe presentarse en todos los canales electroencefalográficos.
2. La descarga espiga-onda presenta una fase de ascenso de la amplitud de la señal seguida de una de descenso hasta restaurarse la actividad cortical previa.
3. La duración de las descargas espiga-onda debe ser mayor a 1 segundo.
4. La frecuencia debe estar en el rango de entre 4 a 8 Hz.
5. El inicio y término de las descargas espiga-onda debe ser abrupta.
6. Conductualmente el animal permanece quieto con espasmos en las vibrisas.

Posterior a la identificación de las crisis de ausencia se cuantificó:

- La frecuencia de las descargas: el número de descargas espiga-onda cada hora.
- La duración de las descargas: tiempo que dura cada descarga espiga-onda.
- La latencia de la primera descarga: el tiempo desde que inicia el registro (0800) hasta la aparición de la primera crisis de ausencia.
- El espectro de potencia: mediante el módulo Sensa se les realizó la transformada rápida de Fourier a las descargas espiga-onda calculando el porcentaje de la potencia cada 1.5 Hz.
- La coherencia cerebral de las descargas espiga-onda: fue obtenida solo en los grupos experimentales para el análisis del núcleo reticular del tálamo en las crisis de ausencia, se cuantifico cada hora entre los canales de electroencefalografía de la corteza frontal y el registro del núcleo reticular talámico mediante el módulo Sensa.

Se consideraron las bandas de frecuencia definidas como: delta: de 0.5 a 4 Hz, theta 1: de 4 a 8 Hz, theta 2: de 8 a 12 Hz, beta 1: de 12 a 20 Hz, beta 2: de 20 a 25 Hz y gama: de 25 a 60 Hz.

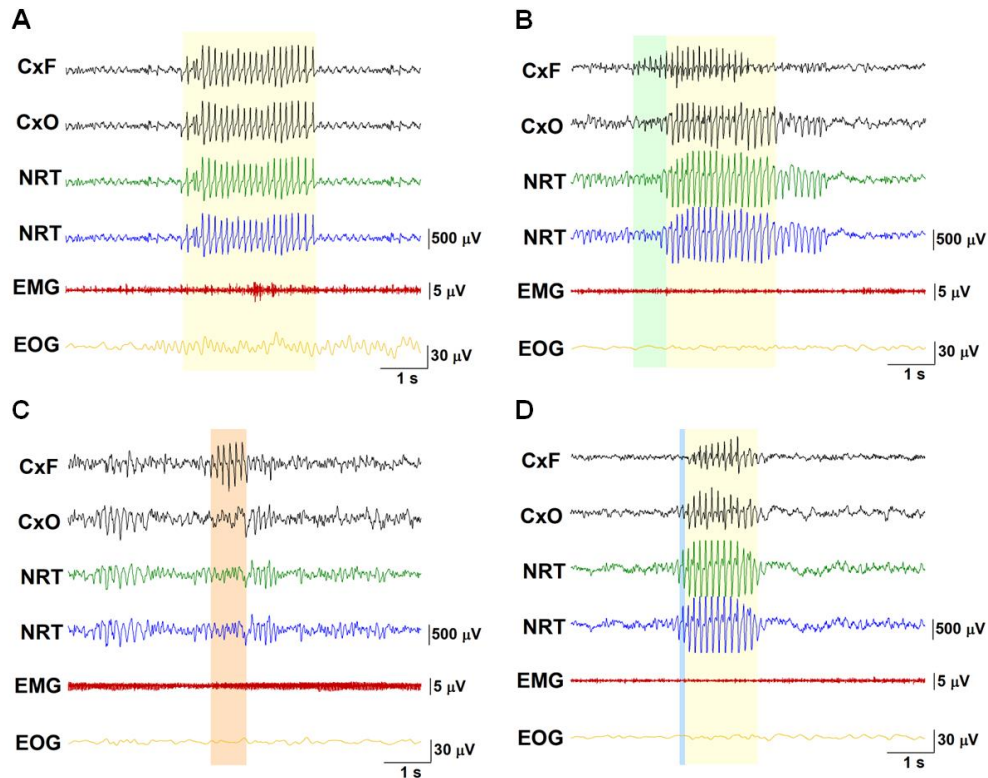


**Figura 24. Registro electroencefalográfico, electromiográfico (EMG) y electrooculográfico (EOG) a través del programa Harmonie sincronizado con una video-filmación.** Se muestra una crisis de ausencia caracterizada electroencefalográficamente por una descarga espiga-onda (sombreada de color amarillo) con el animal conductualmente quieto. Note que el implante (en círculo rojo) está conectado a un sistema móvil tipo “swivel” (flecha amarilla). Cx: corteza, NRT: núcleo reticular talámico, EMG: electromiografía y EOG: electrooculografía.

Durante la evaluación de los registros para el análisis del núcleo reticular del tálamo, se identificaron tres tipos de descargas espiga-onda:

1. Pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal (pre-DEO-CxF). Descargas espiga-onda que preceden a una crisis de ausencia, con inicio en el canal para registro de la corteza frontal (Figura 25B).
2. Descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal (DEO-CxF). Son descargas que solamente se observan en el canal para el registro de la corteza frontal (Figura 25C).
3. Descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo (DEO-NRT). Descargas que preceden a una crisis de ausencia, con inicio en el canal para el registro del núcleo reticular del tálamo (Figura 25D).

Se cuantificó la frecuencia y la duración de las pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal y en el núcleo reticular del tálamo, así como las descargas aisladas en la corteza frontal.



**Figura 25. Tipos de descargas espiga-onda.** Se identificaron tres tipos de descargas espiga-onda. **A)** Se muestran las descargas espiga-onda típicas pertenecientes a una crisis de ausencia (sombreado amarillo) en la rata *taiep*. **B)** Pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal (sombreado verde). **C)** Descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal (sombreado naranja). **D)** Descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo (sombreado azul).

## 8.9 ESTUDIOS MORFOLÓGICOS

### Perfusión cardiaca

Después de los registros control y experimentales, las ratas se sacrificaron con 60 mg/Kg i.p. de pentobarbital sódico (Sedalpharma, Pet's Pharma, México), para posteriormente exponer el corazón mediante la incisión en las uniones esternocostales empleando un costótomo. Se realizó una incisión en la aurícula derecha del corazón para el drenaje sanguíneo, y se puncionó el ventrículo izquierdo del corazón con una cánula de acero inoxidable de 25G x 16 mm conectada a una bomba peristáltica para la infusión de 100 mL de solución de buffer de fosfatos salino (PBS) al 1 M seguido de 100 mL con paraformaldehído diluido al 4 % en solución PBS.

Al término de la perfusión, se decapitó al animal y con ayuda de una cizalla se procedió a cortar el cráneo para la extracción del cerebro y los electrodos sin dañarlos. Después el cerebro se colocó con paraformaldehído al 4 % y almacenado a una temperatura de 4 °C hasta su posterior análisis histológico.

### **Examen histológico del cerebro**

Los cerebros se montaron en la platina de un criostato (Leica CM1850, Alemania), se hicieron cortes de 40  $\mu\text{m}$  en la región del cerebro donde se presente la trayectoria del electrodo profundo y las cánulas a los núcleos reticulares talámicos, para posteriormente teñirse con la técnica de Nissl, la cual consiste en:

1. La tinción de los cortes con violeta de cresilo acidificado con ácido acético durante 5 minutos.
2. Lavado en agua destilada durante 30 segundos.
3. Deshidratación en alcohol a concentraciones crecientes de 70 %, 90 % y 100 %, por 1 minuto en cada uno.
4. Aclaramiento mediante xilol por 1 minuto.

Al finalizar se colocó resina (Permout, Fisher Chemical™, España) y un cubreobjetos. Dejándose secar durante 72 horas a temperatura ambiente. Los cortes fueron analizados en un microscopio (Axio, Zeiss, Scope.A1, Alemania) acoplado a una cámara (Axio Cam ICc1, Alemania) y analizados con el programa de cómputo ZEN 2.3 (blue edition) de ©Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2011 (Alemania). Para la identificación del núcleo reticular talámico se empleó la lámina 45 del atlas de Paxinos y Watson (2007) utilizando como estructura de referencia la morfología del tercer ventrículo y los ventrículos laterales, localizándose el núcleo reticular talámico a 1 mm de la unión de la pared lateral y del piso del tercer ventrículo.

### **8.10 INMUNODETECCIÓN DE LAS ENZIMAS GAD-65 Y 67 Y DEL RECEPTOR GABA<sub>A</sub>**

Se utilizaron ratas *taiep* (n = 4) y Sprague-Dawley adultas (n = 4) de 6 meses de edad. Se sacrificaron por decapitación y con ayuda de un costótomo se procedió a

cortar el cráneo para la extracción del cerebro a una temperatura de 4 °C, se retiró la protuberancia hipofisaria de la base del encéfalo, para posteriormente extraer los núcleos talámicos y las cortezas somatosensitivas con el apoyo de las M. en C. Adriela Fierro y Lilia Díaz. El tejido fue homogenizado con un homogenizador electrónico en buffer de lisis (0.02M tris HCl pH 7.4, 0.1M NaCl, 0.1M glicina y tritón x100 al 0.1%) adicionado con un cóctel de inhibidores de proteasas (Sigma-Aldrich, Estados Unidos de América), 1mM de fenil-metil-sulfonil-florde (PMSF) y 1mM de ditiotreitól. Los homogenados obtenidos fueron centrifugados durante 30 minutos a 13,000 rpm a 4 °C. Se recuperó el sobrenadante y se determinó la concentración de proteínas mediante el uso de detergentes a base de ácido bicinconínico (BCA) para la detección colorimétrica de las proteínas totales con el Kit de análisis de proteínas Pierce™ BCA (Thermo Fisher Scientific, EUA). Inmediatamente se congeló el sobrenadante a -80 °C en un ultra-congelador tipo Revco (Thermo Scientific, Forma™ serie 900, EUA) hasta su ulterior procesamiento.

La separación electroforética de las proteínas se hizo utilizando geles de poliacrilamida y dodecil-sulfato de sodio (SDS-PAGE) al 10 % de acuerdo al método de Laemmli (Laemmli, 1970). Las muestras fueron depositadas en el gel y separadas mediante una corriente de 80 mV subiendo la corriente 20 mV cada 20 minutos hasta llegar a 120 mV los cuales se mantuvieron durante 1 h 20 minutos. Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando el sistema Mini Trans-Blot Cell (Bio-Rad Laboratories, Inc, EUA) bajo las condiciones de una corriente de 20 mV a 4 °C por 20 horas.

Después, las membranas fueron bloqueadas durante 3 horas a temperatura ambiente y agitación constante con Animal-Free Blocker® 5x (Vector Laboratories) diluido al 1x en buffer Tris-salino con Tween® 20 pH 7.6 (TBST), para evitar uniones inespecíficas de los anticuerpos empleados.

Las membranas se incubaron de 16 a 18 horas a 4 °C con el anticuerpo primario de ratón Anti-GAD-65 (1:500, sc-377145 Santa Cruz Biotechnology, Inc. EUA), ratón Anti-GAD-67 (1:250, sc-28376 Santa Cruz Biotechnology, Inc. EUA), cabra

Anti-GABA<sub>A</sub>R $\alpha$ <sub>2</sub> (1:1000; sc-7349 Santa Cruz Biotechnology, Inc. EUA) o ratón anti- $\beta$ -actina (1:10,000; GeneTex, EUA) diluidos en Animal-Free Blocker® 1x. Posteriormente son incubadas a 4 °C con el anticuerpo secundario de caballo anti-ratón IgG (H+L) peroxidasa (Vector Laboratories, EUA) o de caballo anti-cabra IgG (H+L) peroxidasa (Vector Laboratories, EUA) durante 2 horas en una dilución de 2.5  $\mu$ g/mL con buffer de fosfatos salino al 10 mM (PBS) y Tween® 20 al 0.1%.

Las bandas inmunorreactivas se revelaron exponiendo las membranas a sustrato líquido 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB; Sigma-Aldrich, EUA) de 5 a 15 minutos, removiendo e inhibiendo el sustrato líquido con agua desionizada cuando las bandas fueran visibles y el fondo aun claro.

La expresión de GAD-65, GAD-67, GABA<sub>A</sub> y  $\beta$ -actina se midieron mediante densitometría con el programa ImageJ (NIH, EUA). La expresión de la  $\beta$ -actina se cuantificó como control de expresión en la misma membrana. Los resultados obtenidos fueron expresados como densidad óptica de la banda anti-GAD-65, anti-GAD-67 o anti-GABA<sub>A</sub> con respecto de la banda de  $\beta$ -actina para cada uno de los grupos experimentales.

### **8.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico Sigma Plot versión 11.0 (Systat software Inc., EUA), para el análisis de las crisis de ausencia por edad y sexo se graficó la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia total, duración total, duración promedio, la latencia a la primera crisis y la potencia relativa. En los grupos experimentales para el análisis de las crisis de ausencia y orquiectomía se graficó media  $\pm$  error estándar cada dos horas de la frecuencia, y la duración de las crisis de ausencia. Por otro lado, los grupos experimentales para el análisis de la participación del núcleo reticular del tálamo se graficó media  $\pm$  error estándar cada hora de la frecuencia, la duración, la potencia relativa, y la coherencia cerebral de las crisis de ausencia y de las pre-DEO en la corteza frontal y núcleo reticular del tálamo, así como de las descargas aisladas en la corteza frontal, la

latencia a la primera crisis se graficó respecto a cada dosis de cada fármaco. Posteriormente, se graficó la expresión porcentual de GAD-65, GAD-67 y el receptor GABA<sub>A</sub> en corteza somatosensitiva y tálamo de la rata *taiep* respecto a las ratas Sprague-Dawley.

Con el programa estadístico SPSS versión 22.0 (IBM, EUA) las variables de los grupos experimentales para el análisis de las crisis de ausencia por edad y sexo se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA) de un factor para la edad y el sexo, seguido de la prueba de comparación múltiple de Bonferroni. Los sexos se compararon mediante una prueba t de Student. La frecuencia, la duración, la potencia relativa y la coherencia cerebral de las crisis de ausencia y las pre-DEO en la corteza frontal y núcleo reticular del tálamo, así como de las descargas aisladas en la corteza frontal se analizaron mediante la prueba de varianza de medidas repetidas (ANOVA), seguido de la prueba de comparación múltiple de Bonferroni; para analizar los efectos de los fármacos en el tiempo y comparar las curvas tiempo-respuesta respecto al grupo control. Para el análisis de la latencia se llevaron a cabo pruebas de ANOVA de un factor, contrastando los resultados mediante la prueba de Tukey. Las concentraciones de GAD-65, GAD-67 y el receptor GABA<sub>A</sub> se analizaron con pruebas de t de Student comparando la expresión de las proteínas de las ratas *taiep* respecto a las ratas control Sprague-Dawley en la corteza somatosensitiva y en el tálamo. Se consideró como diferencia significativa cuando  $P \leq 0.05$ .

Para los grupos experimentales para el análisis de las crisis de ausencia por edad y sexo se utilizó MatLab® R2017a para ajustar el número y la duración de las descargas espiga-onda a una onda sinusoidal durante las 24 horas del registro utilizando el análisis de Cosinor para calcular la amplitud, la estadística de estimación de la línea media del ritmo (MESOR de sus iniciales en inglés midline estimating statistic of rhythm) y la acrofase. Se representó gráficamente como un gráfico de elipse. Se consideró una diferencia significativa cuando  $P \leq 0.05$ .

## 9. RESULTADOS

---

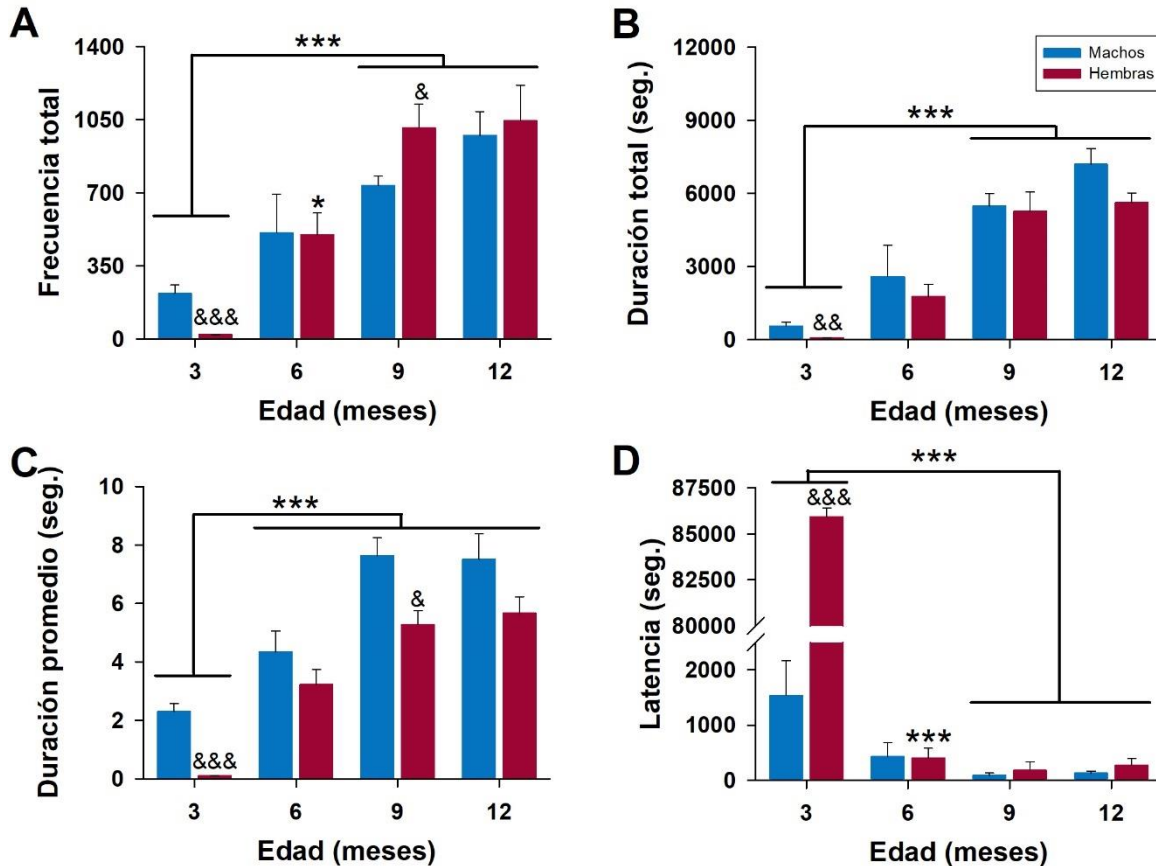
### 9.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS CRISIS DE AUSENCIA POR EDAD Y SEXO

En ambos sexos, el número, duración total y media de las crisis de ausencia aumentó con la edad (véase Figura 26A, B y C; y Tabla 5). El número de crisis de ausencia en ratas macho aumento significativamente a los 9 meses de edad (ANOVA,  $F_{(7,36)} = 12.5$ ,  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.01$ ) con respecto a los 3 meses de edad; mientras que en las hembras tuvieron un aumento significativo a partir de los 6 meses de edad (ANOVA,  $F_{(7,36)} = 18.3$ ,  $P < 0.001$ ; seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.05$ ) con respecto a los 3 meses de edad (véase Figura 26A). Presentando un aumento significativo en la duración total de las crisis a partir de los 9 meses en ambos sexos (ANOVA,  $F_{(7,36)} = 22.2$ ,  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.001$  en ratas macho; ANOVA,  $F_{(7,36)} = 31.5$ ,  $P < 0.001$ , seguida de la prueba de Bonferroni  $P < 0.001$  en ratas hembra; Figura 26B) y a partir de los 6 meses de edad sobre la duración media (ANOVA,  $F_{(7,36)} = 18.1$ ,  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.001$  en ratas macho; ANOVA,  $F_{(7,36)} = 35$ ,  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.001$  en ratas hembra, Figura 26C) respecto a los 3 meses de edad en ambos sexos. Es importante destacar que las ratas *taiep* hembras solo el 16 % tenían crisis de ausencia a los 3 meses de edad, a diferencia de las ratas macho, cuyo 100 % tenían crisis de ausencia a la misma edad. Las ratas hembra a los 3 meses de edad tuvieron un número total de crisis de ausencia significativamente menor (prueba t de Student,  $t_{10} = 5.2$ ,  $P < 0.001$ ) así como en su duración total (prueba t de Student,  $t_{10} = 3.6$ ,  $P < 0.01$ ) respecto a las ratas macho. También mostraron una duración media menor a los 3 y 9 meses de edad (prueba t de Student,  $t_9 = 2.9$ ,  $P < 0.05$ ) con respecto a ratas *taiep* macho. Las ratas hembra a los 9 meses de edad presentaron un mayor número de crisis de ausencia con respecto a las ratas macho de la misma edad (prueba t de Student,  $t_9 = -2.4$ ,  $P < 0.05$ ). Estos resultados muestran que las crisis de ausencia en las ratas *taiep* tienen un dimorfismo sexual (ver Figura 26A, 2B, 2C y Tabla 5).

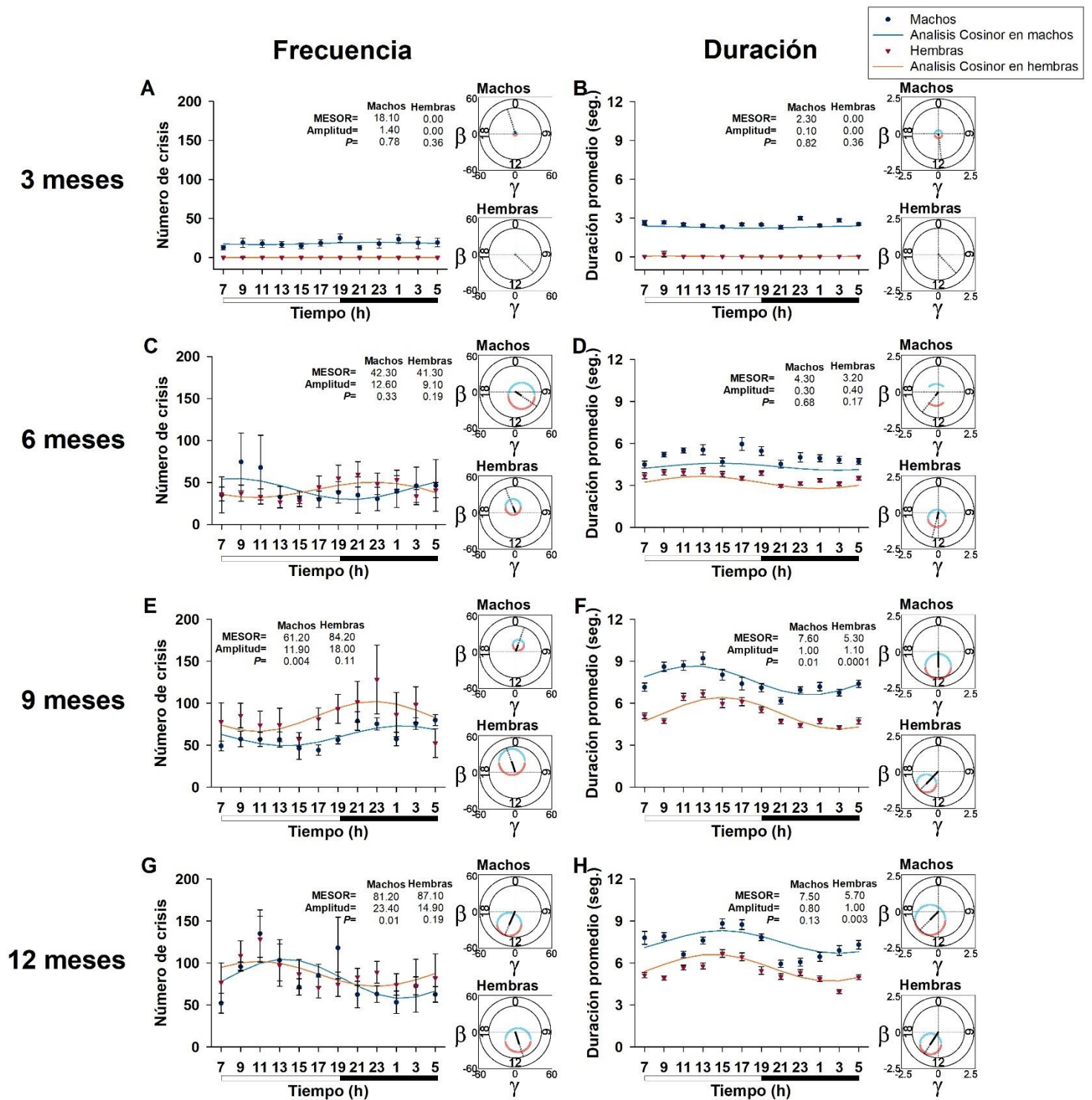
La latencia para la primera crisis de ausencia disminuyó con la edad en ambos sexos; a partir de los 6 meses de edad en ratas hembra (ANOVA,  $F_{(7,36)} = 2392$ ,  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.001$ ) y hasta los 9 meses de edad en ratas macho (ANOVA,  $F_{(7,36)} = 3.5$ ,  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.05$ ). La latencia fue mayor a los 3 meses en las ratas *taiep* hembras con respecto a los machos (prueba t de Student,  $t_{10} = -106$ ,  $P < 0.001$ ; véase la Figura 26D y la Tabla 5).

### **Variaciones circadianas de las crisis de ausencia en la rata *taiep***

Las crisis de ausencia de la rata *taiep* de 3 y 6 meses no mostraron un ritmo circadiano (véase Figura 27A, B, C y D). Posteriormente, a los 9 meses de edad las ratas macho tuvieron un mayor número de crisis de ausencia durante la fase de oscuridad con respecto a la fase de luz (Prueba t de Student,  $t_{10} = -2.6$ ,  $P < 0.05$ ; Cosinor  $P < 0.01$ ; Figura 27E). Este patrón es el contrario a los 12 meses de edad, donde hay un mayor número de crisis de ausencia en la fase de luz con respecto a la fase oscura (Prueba t de Student,  $t_{10} = -2.6$ ,  $P < 0.05$ , Cosinor  $P < 0.01$ ; véase Figura 27G). Un patrón similar se obtuvo con la duración de las crisis de ausencia, donde la acrofase se obtuvo en la fase de luz en las edades de 9 y 12 meses en ambos sexos (Prueba t de Student,  $t_4 = 8$ ,  $P < 0.01$ , Cosinor  $P < 0.01$ ; Figura 27F y H; y tabla 5).



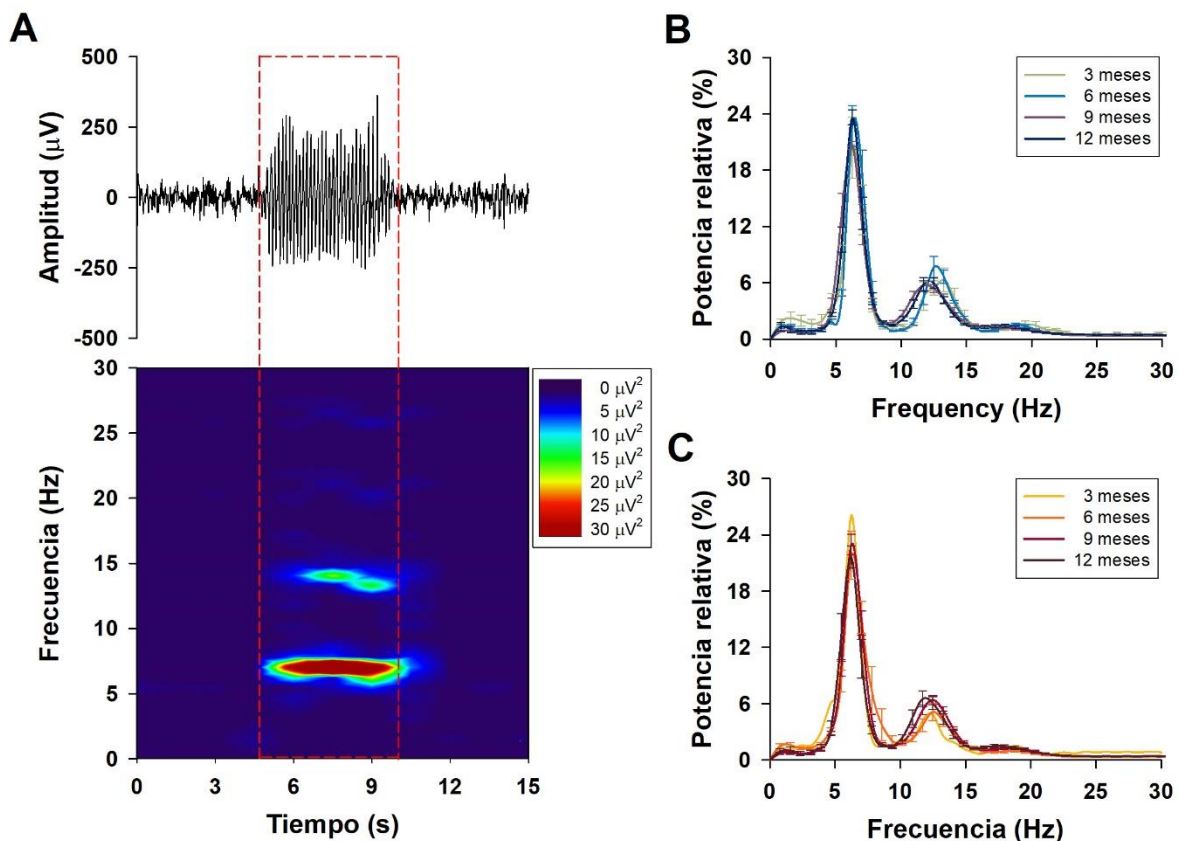
**Figura 26. Caracterización de las crisis de ausencia en ratas *taiep* macho y hembra a lo largo del primer año de vida. A)** Número de crisis de ausencia en 24 horas, en ratas macho (azul), las crisis comienzan a los 3 meses de edad y aumentan significativamente a los 9 y 12 meses de edad ( $*** P < 0.001$ ). Las ratas *taiep* hembras (roja) tuvieron crisis de ausencia hasta los 6 meses de edad. Las ratas macho tienen hasta mil veces más crisis que las ratas hembra a los 3 meses de edad ( $*** P < 0.001$ ). Mientras que a los 9 meses las hembras tienen hasta 1.4 veces más crisis que los machos ( $& P < 0.05$ ). **B)** La duración total de las crisis de ausencia aumenta en ratas *taiep* machos y hembras a los 9 y 12 meses con respecto a los 3 meses de edad ( $*** P < 0.001$ ). Obsérvese que a los 3 meses de edad las crisis de ausencia duran 2500 veces más en las ratas macho con respecto a las hembras ( $& P < 0.01$ ). **C)** La duración promedio de las crisis de ausencia en ratas *taiep* macho es 125 veces mayor que a los 3 meses de edad con respecto a ratas hembra de la misma edad. Incluso la duración media de las ratas *taiep* macho es 1,5 veces mayor que la de las ratas hembra a los 9 meses ( $*** P < 0.001$ ). **D)** La latencia para la primera crisis en ratas *taiep* macho disminuye significativamente hasta los 9 meses de edad ( $*** P < 0.001$ ), mientras que en las hembras disminuye desde los 6 meses de edad ( $*** P < 0.001$ ). A los 3 meses de edad las hembras tienen un incremento en la latencia para la primera crisis respecto a las ratas macho ( $*** P < 0.001$ ).



**Figura 27. Análisis de cosinor sobre la frecuencia y duración de las crisis de ausencia en ratas taiep a diferentes edades.** A los 3 y 6 meses de edad las ratas *taiep* no muestran un patrón circadiano en el número (A y C) y la duración (B y D) de las crisis de ausencia. A los 9 meses de edad, las ratas macho muestran E) la acrofase para el número de crisis de ausencia en la fase de oscuridad, esto se invierte G) a los 12 meses de edad, donde la acrofase de encuentra en la fase de luz. En ambos sexos a los F) 9 y H) 12 meses de edad la acrofase de la duración de las crisis de ausencia se mantuvo en la fase de luz. Los recuadros a la derecha de cada grafico muestran la hora de la acrofase para cada sexo y edad. La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra la fase oscura del ritmo circadiano.

### Análisis del espectro de potencia de las crisis de ausencia en la rata *taiep*

Las descargas espiga-onda en ratas *taiep* tuvieron un componente principal o predominante en la frecuencia con  $6.31 \pm 0.05$  Hz. Este componente representa el  $21.6 \% \pm 1.1 \%$  del espectro total de frecuencias. Adicionalmente, las descargas espiga-onda mostraron un segundo componente a  $12.39 \pm 0.06$  Hz representando el  $5.96 \% \pm 0.4 \%$  del espectro total. No hay diferencias significativas en el espectro de frecuencia entre sexos ni entre las diferentes edades analizadas (véase Figura 28; Tabla 5).



**Figura 28. Análisis del espectro de potencia de las crisis de ausencia en ratas *taiep*.** A) Registro electroencefalográfico (EEG) típico durante una crisis de ausencia con las descargas espiga-onda características (línea punteada roja). Las crisis de ausencia tienen un componente principal a 6.31 Hz que representa un  $21.6\% \pm 1,1\%$  del espectro de frecuencia total, y un segundo armónico a 12.5 Hz que representa un  $5.96 \pm 0.4\%$  del espectro de frecuencia total. Es importante destacar que las características del espectro no difirieron entre los sexos y las edades (B y C).

Tabla 5. Caracterización de las crisis de ausencia de la rata *taiep*.

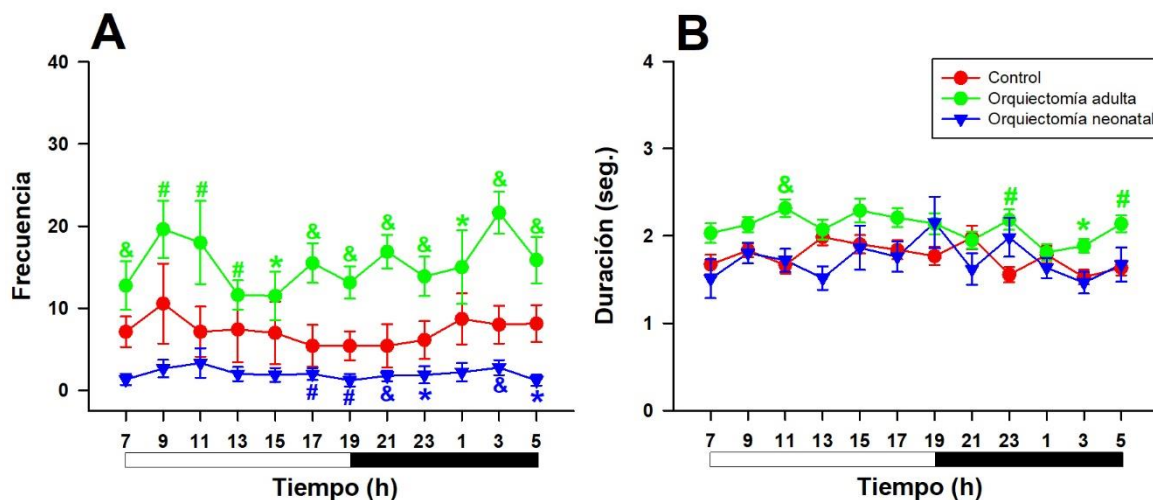
Sexo	Edad (meses)	24 h		Fase de Luz		Fase de oscuridad		Duración promedio de las crisis (seg.)	Latencia para la primera crisis (seg.)	Frecuencia del componente principal de la DEO (Hz)
		Número de crisis	Duración total de las crisis (seg.)	Número de crisis	Duración total de las crisis (seg.)	Número de crisis	Duración total de las crisis (seg.)			
Machos	3	216.8 ± 40.9	552.8 ± 152.3	112.2 ± 19.0	278.4 ± 59.5	104.7 ± 24.3	274.4 ± 96.1	2.3 ± 0.3	1535.3 ± 633.6	6.51 ± 0.16
	6	507.7 ± 184.8	2584.9 ± 1279.0	275.3 ± 90.6	1480.3 ± 654.5	232.5 ± 127.7	1104.6 ± 724.9	4.3 ± 0.7***	424.0 ± 259.8	6.25 ± 0.0
	9	734.0 ± 45.0**	5483.1 ± 506.0***	317.7 ± 28.0	2608.1 ± 370.4***	416.3 ± 25.3* <sup>%</sup>	2874.3 ± 156.6***	7.6 ± 0.6***	88.7 ± 42.9*	6.25 ± 0.0
	12	974.4 ± 114.1***	7189.8 ± 550.6***	608.6 ± 83.2***	4731.2 ± 479.1***	365.8 ± 36.8 <sup>%</sup>	2458.6 ± 303.7*** <sup>%</sup>	7.5 ± 0.9***	126.0 ± 39.2*	6.25 ± 0.0
Hembras	3	0.2 ± 0.2 <sup>MS</sup>	0.2 ± 0.2 <sup>MS</sup>	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.02 ± 0.02 <sup>MS</sup>	85927.8 ± 472.2 <sup>MS</sup>	6.25 ± 0.0
	6	498.2 ± 104.4	1759.6 ± 514.6	225.0 ± 49.6	863.8 ± 276.4	273.2 ± 55.7	895.7 ± 243.3	3.2 ± 0.5***	399.2 ± 179.6***	6.51 ± 0.26
	9	1010.4 ± 113.6*** <sup>%</sup>	5250.9 ± 807.4***	465.0 ± 66.6***	2731.4 ± 505.7***	545.4 ± 100.3***	2519.5 ± 492.7***	5.3 ± 0.5*** <sup>%</sup>	174.0 ± 160.2***	6.25 ± 0.0
	12	1044.7 ± 170.7***	5612.7 ± 408.8***	566.7 ± 88.1***	3269.2 ± 236.2***	478.0 ± 108.5***	2343.5 ± 415.5***	5.6 ± 0.6***	270.7 ± 122.9***	6.12 ± 0.13

DEO: descargas espiga-onda. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  diferencia significativa respecto a los 3 meses de edad. <sup>%</sup> $P < 0.05$ , <sup>MS</sup> $P < 0.01$ , <sup>MS%</sup> $P < 0.001$  diferencia significativa con el macho de la misma edad. <sup>%</sup> $P < 0.05$ , <sup>MS</sup> $P < 0.01$ , <sup>MS%</sup> $P < 0.001$  diferencia significativa con la fase de luz.

## 9.2 ANÁLISIS DE LAS CRISIS DE AUSENCIA EN RATAS ORQUIECTOMIZADAS

La orquiectomía neonatal disminuyó significativamente la frecuencia de las crisis de ausencia respecto al grupo control. Sin embargo, la orquiectomía a edad adulta presenta una mayor frecuencia de crisis respecto al grupo control. Esta frecuencia aumentó hasta 210 % a las 21 horas al comparar el grupo control con el grupo con orquiectomía adulta. En cuanto al grupo con orquiectomía neonatal, se obtuvo una disminución significativa de las crisis al compararlo con el grupo con orquiectomía adulta, que fue desde  $187.9 \pm 24.7$  crisis hasta  $24.4 \pm 8.7$  crisis, (ANOVA seguido de la prueba Bonferroni,  $F_{(2,21)} = 15.3$ ,  $P < 0.001$ ; véase Figura 29A).

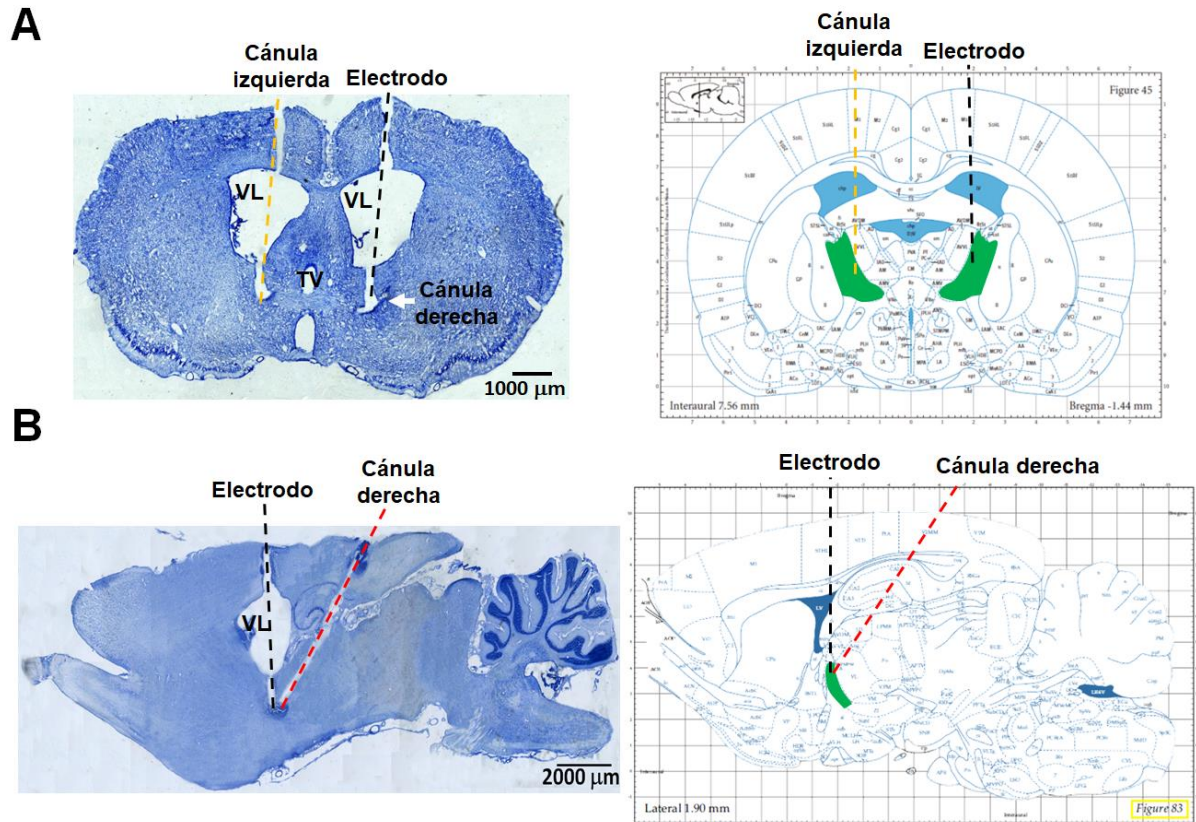
La duración de las crisis incremento significativamente en el grupo con orquiectomía adulta con la duración máxima de  $2.3 \pm 0.17$  segundos a las 11 horas (ANOVA  $F_{(2,21)} = 8.9$ ,  $P < 0.001$ ). La media de duración para el grupo control y con orquiectomía neonatal fue de  $1.7 \pm 0.03$  y de  $1.7 \pm 0.05$  segundos, respectivamente. Mientras que, para el grupo con orquiectomía adulta, la duración media aumentó hasta  $2.08 \pm 0.03$  segundos (ANOVA,  $F_{(2,21)} = 28.9$ ,  $P < 0.001$ ; véase Figura 29B).



**Figura 29. Efecto de la orquiectomía en las crisis de ausencia en ratas *taiep*.** **A)** La media de frecuencia de las crisis de ausencia aumentó de manera significativa en el grupo con orquiectomía adulta en comparación con el grupo control y con orquiectomía neonatal. Mientras que la media de la frecuencia en el grupo con orquiectomía neonatal disminuyó respecto al grupo control sin orquiectomía. **B)** La orquiectomía adulta también aumentó la duración de las crisis de ausencia los periodos a las 11, 23, 3 y 5 horas respecto con el grupo control. La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra la fase oscura del ritmo circadiano. \* $P < 0.05$ , # $P < 0.01$ , & $P < 0.001$  diferencia significativa respecto al grupo control.

### 9.3. EXAMEN HISTOLÓGICO DEL CEREBRO

Un primer paso fue un corte para verificar un correcto nivel del implante en el núcleo reticular del tálamo rostral que es fundamental para los resultados de la esta tesis (véase Figura 30 panel A y B).



**Figura 30. Fotomicrografía de un corte coronal (A) y sagital (B) de cerebro de rata *taiep* a la altura del trayecto del electrodo profundo y las cánulas de acero inoxidable, teñida mediante la técnica de Nissl. Se observa el sitio en el que se colocó el electrodo profundo (azul), la cánula izquierda (amarillo) y la cánula izquierda (rosa). Note que los trayectos llegan de manera correcta al núcleo reticular del tálamo. VL: ventrículo lateral, TV: tercer ventrículo.**

#### **9.4 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE BLOQUEADORES DE CANALES DE $Ca^{+2}$ TIPO T EN EL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO ROSTRAL**

##### **Etosuximida**

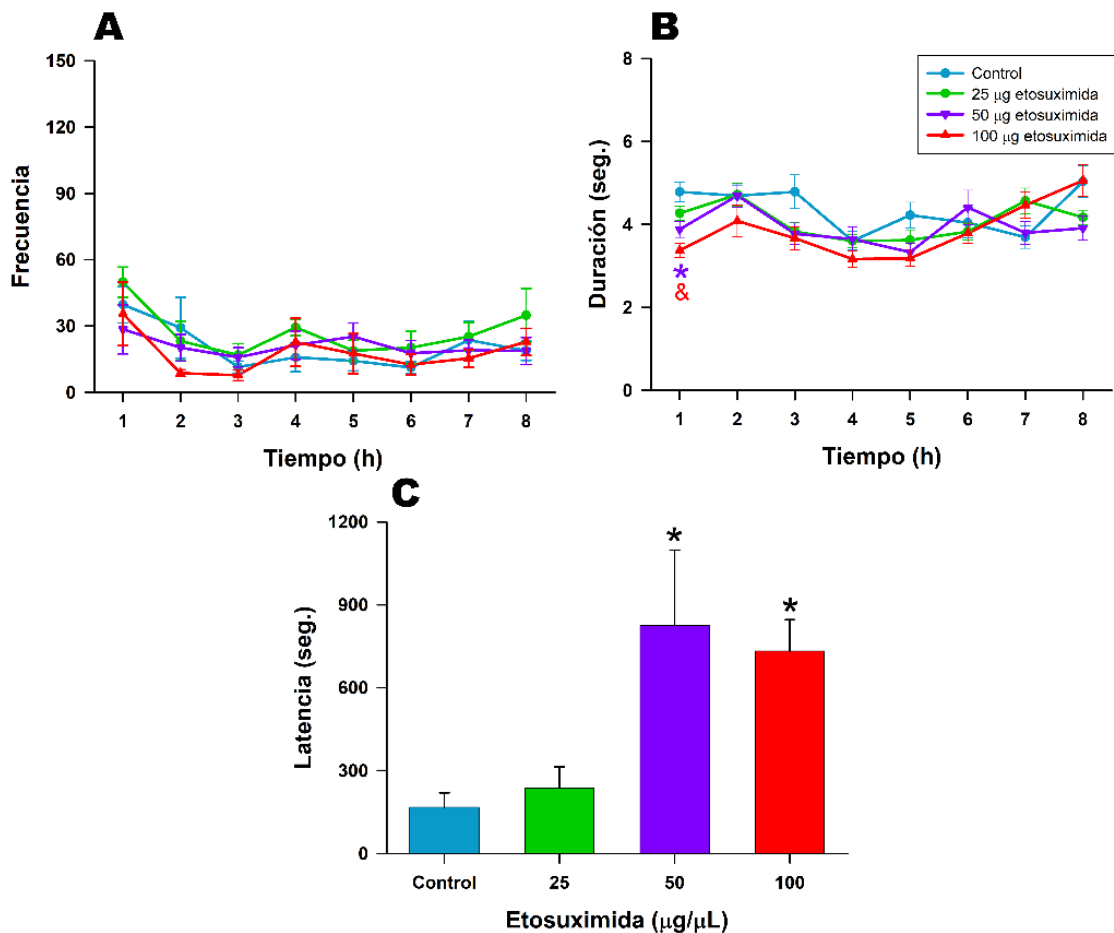
La administración de etosuximida en el núcleo reticular del tálamo no produjo cambios en el número de las crisis de ausencia respecto al grupo control (véase Figura 31A). Sin embargo, su administración disminuyó significativamente la duración de las crisis de ausencia durante la primera hora (ANOVA  $F_{(3,7)} = 8.8$  y  $P < 0.001$ ) reduciendo un 20 % de la duración con la dosis de 50  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $3.8 \pm 0.1$  s,  $P < 0.05$ ), y hasta un 30 % con la dosis de 100  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $3.3 \pm 0.1$  s,  $P < 0.001$ ), respecto al grupo control ( $4.7 \pm 0.2$  s, véase Figura 31B). Estas mismas dosis aumentaron la latencia para que se registre la primera crisis de ausencia, esto en hasta 3.4 veces de incremento (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.5$ ,  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni  $P < 0.05$ ), respecto al control con una latencia de  $177 \pm 86$  s (véase Figura 31C; Tabla 6).

La administración de etosuximida en el núcleo reticular del tálamo rostral no tuvo efecto sobre la frecuencia principal obtenida con la transformada rápida de Fourier de las descargas espiga-onda, manteniéndose un componente principal en 6.25 Hz de frecuencia con cada dosis del fármaco en cada hora (véase Figura 32).

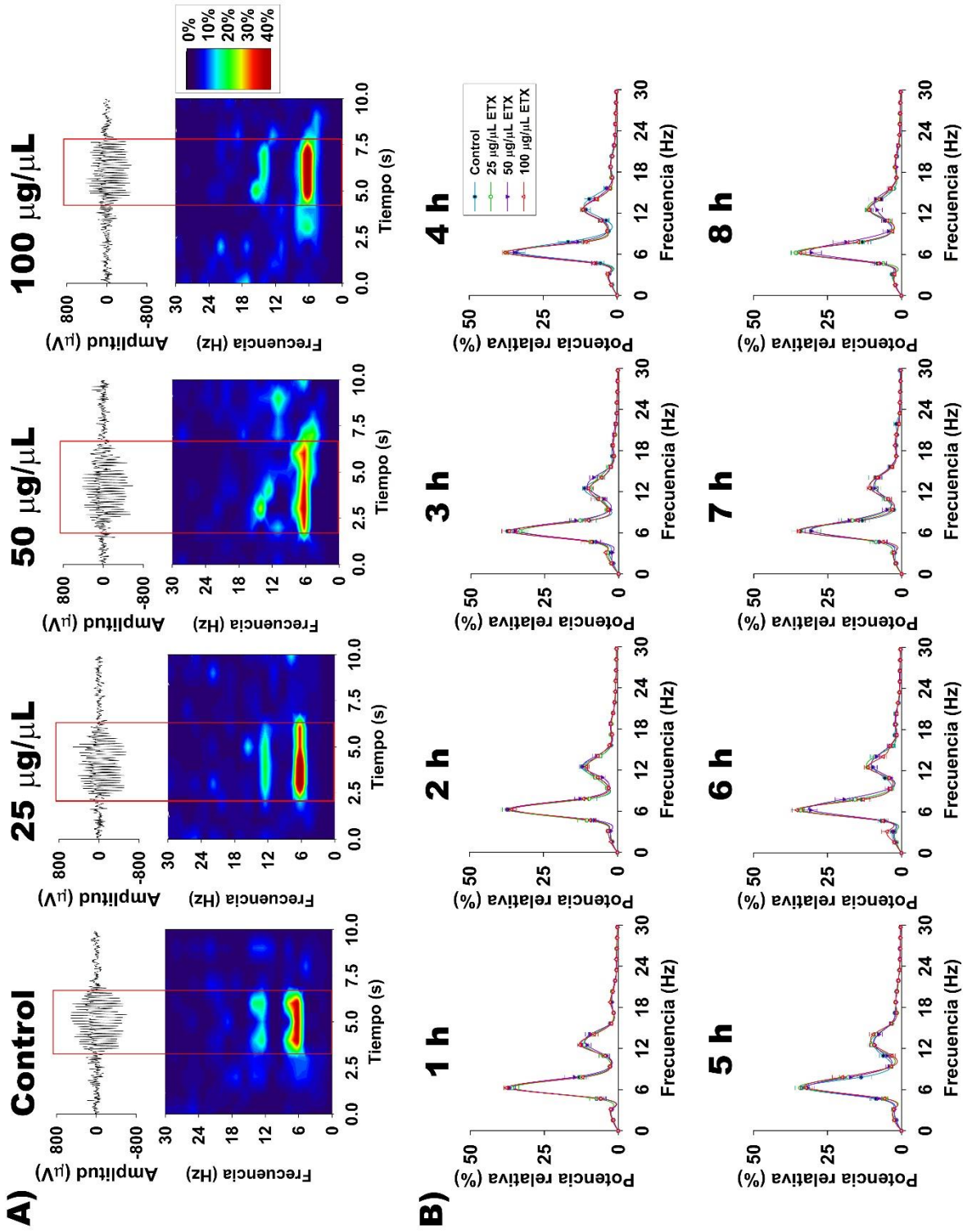
La sincronidad entre la corteza frontal (CxF), occipital (CxO) y el núcleo reticular del tálamo rostral (NRT) medida con la coherencia cerebral, se mantuvo sin cambios con la administración de la etosuximida (Figura 33, 34 y 35).

Es importante notar que la sincronidad entre las cortezas frontal y occipital, así como entre la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo (NRT) muestran una coherencia cerebral predominante de un 54.2 %  $\pm$  1.6 % ( $\bar{x} \pm \text{E.E.M.}$ ) entre el rango de las frecuencias de 1.56 - 6.25 Hz (véase Figura 33 y 34). Por otra parte, la sincronidad entre la corteza occipital y el núcleo reticular del tálamo muestran una sincronía predominante en las frecuencias de 5.47 - 7.42 Hz con una coherencia cerebral de 88.9 %  $\pm$  0.9 % y las frecuencias de 12.5 - 13.28 Hz con una coherencia cerebral de 90.8 %  $\pm$  0.6 % (véase Figura 35; Tabla 7).

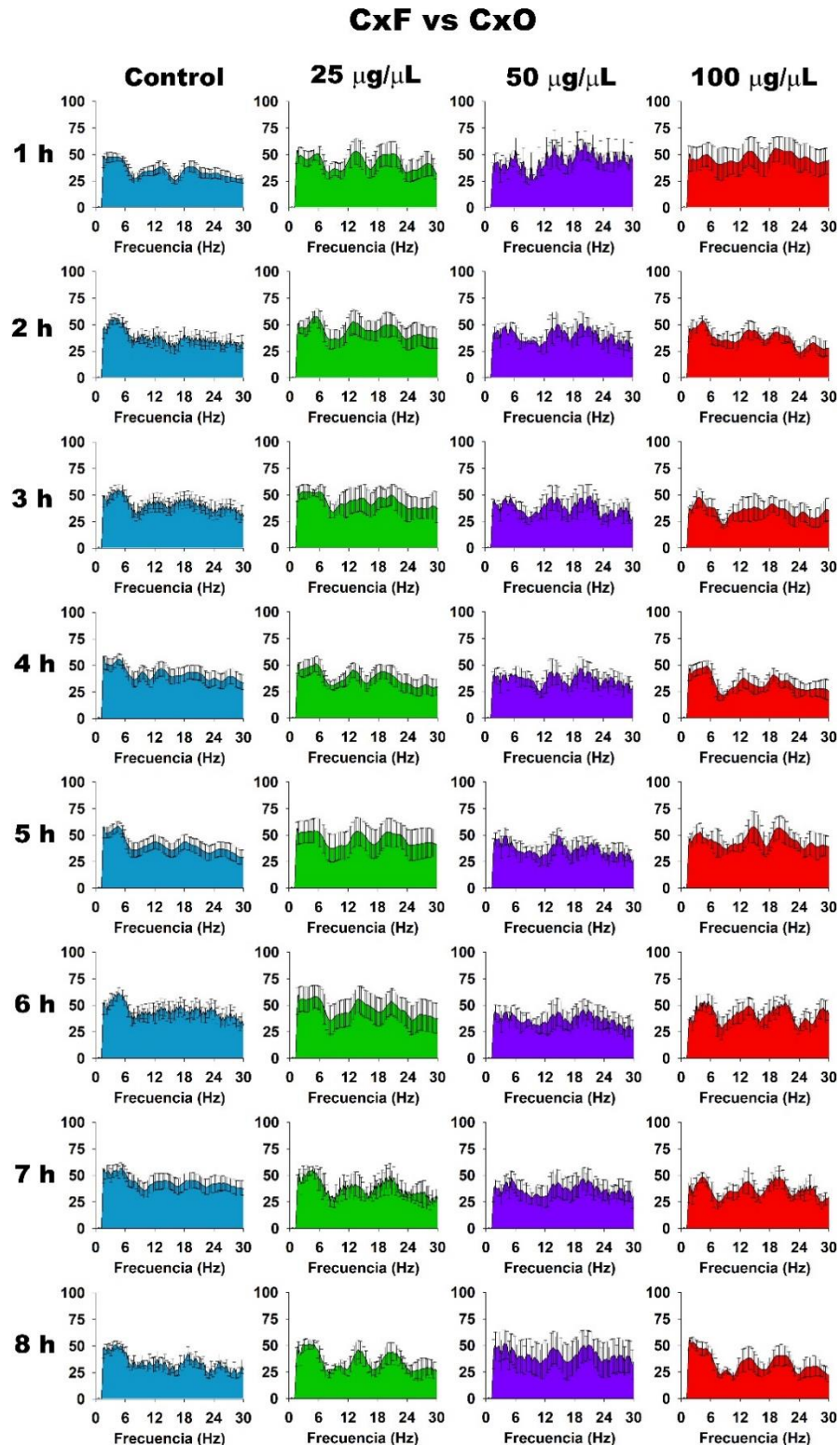
La administración de etosuximida disminuyó durante la segunda hora hasta un 58 % la duración de las pre-descargas en la corteza frontal con la dosis de 100  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $0.36 \pm 0.1\text{s}$ ; ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.8$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ; sin producir cambios en el número de descargas espiga-onda. Tampoco produjo cambios significativos en las descargas aisladas de la corteza frontal ni las del núcleo reticular del tálamo (véase Figura 36; Tabla 8).



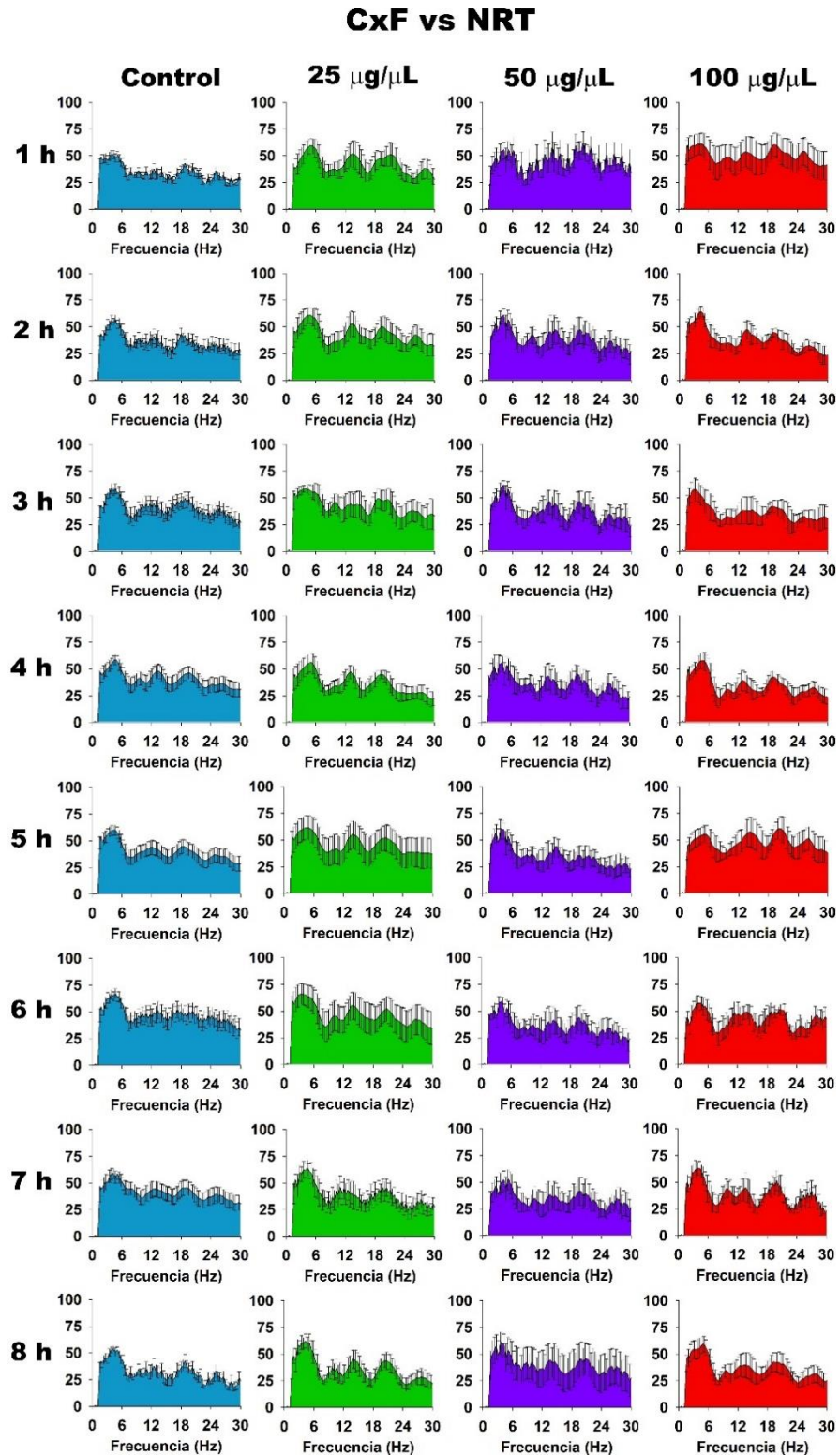
**Figura 31. Efecto de la administración de etosuximida en el núcleo reticular talámico rostral sobre las crisis de ausencia.** La administración de etosuximida no produjo cambios en **A**) el número de crisis, pero sí **B**) la duración de las crisis de ausencia, disminuyendo significativamente en la primera hora después de la administración de las dosis de 50 y 100  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ . En este mismo contexto, estas mismas dosis incrementaron **C**) la latencia para la primera crisis hasta 3.4 veces. \*  $P < 0.05$ , &  $P < 0.001$ , respecto al grupo control.



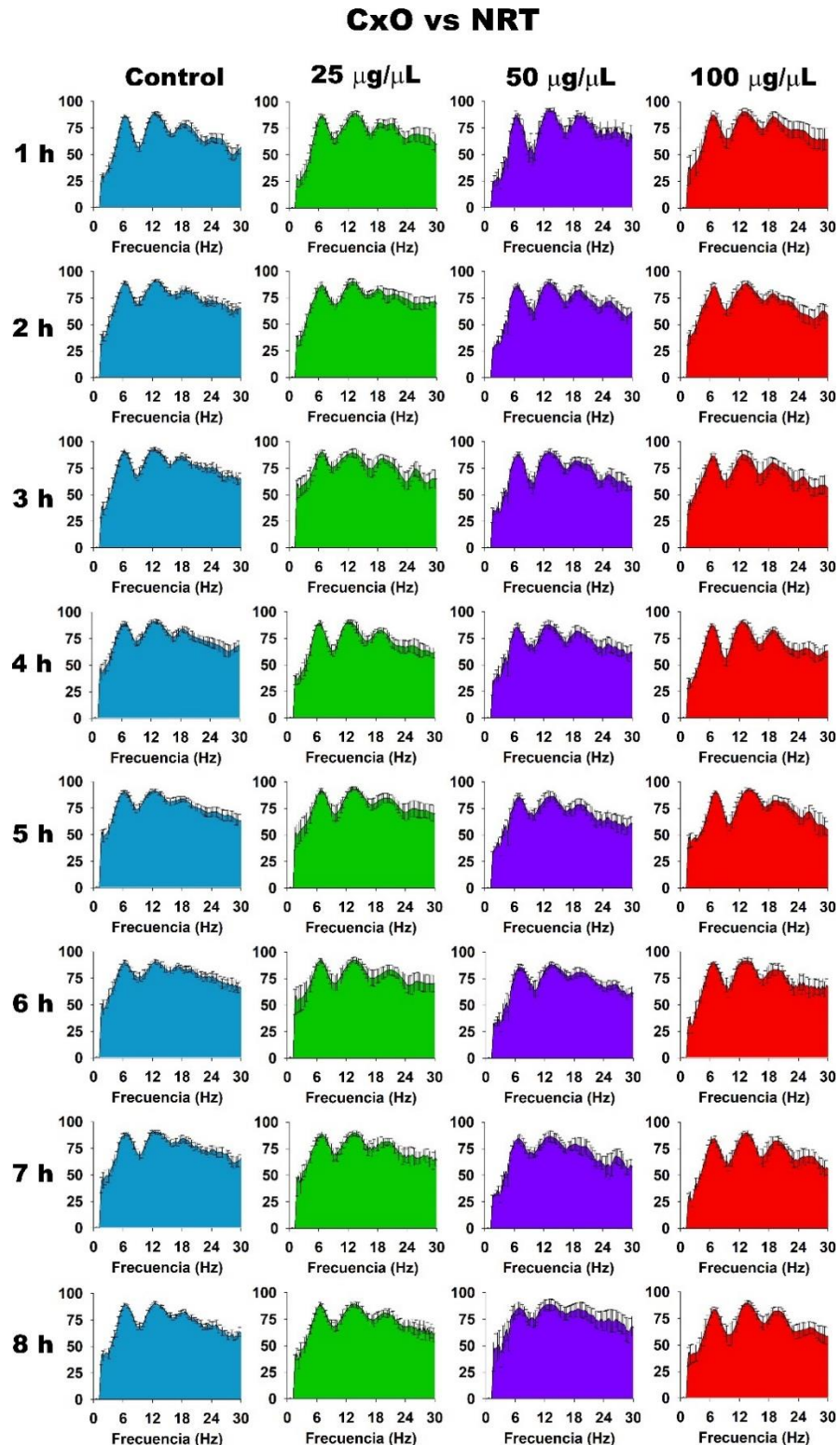
**Figura 32. Efecto de la administración de etosuximida en el espectro de potencia de las descargas espiga-onda.** La administración de etosuximida no tiene efecto sobre el ritmo de las descargas espiga-onda. En **A)** se puede observar una descarga espiga-onda de una crisis de ausencia por cada dosis de etosuximida con su respectivo espectro de potencia a través del tiempo. En **B)** se grafican los espectros de potencia del grupo control y de cada dosis por cada hora durante el registro. Note que el componente principal de las descargas espiga-onda se mantuvo en  $6.25 \pm 0$  Hz en todas las condiciones.



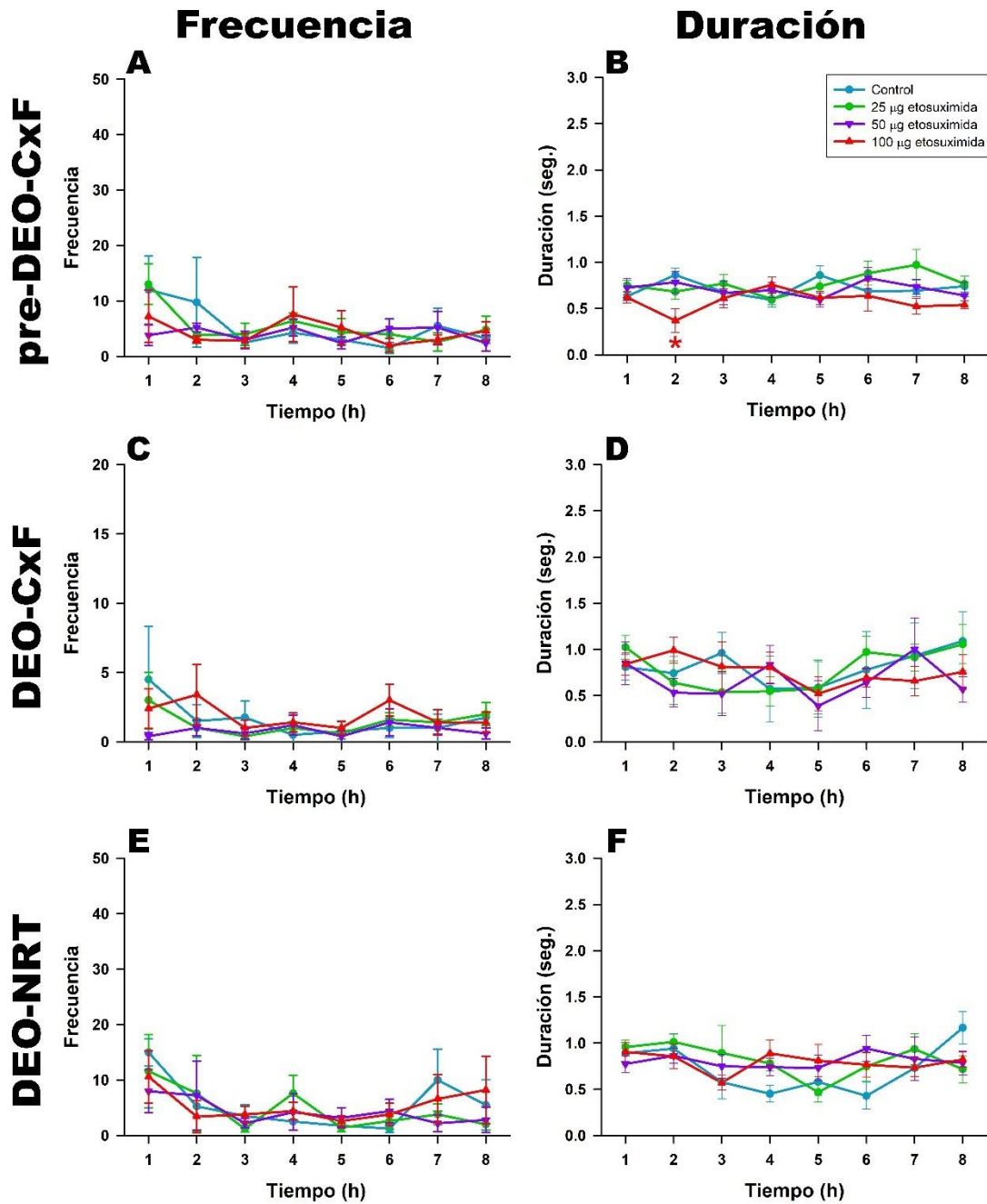
**Figura 33. Coherencia cerebral entre la corteza frontal (CxF) y la occipital (CxO) después de la administración de etosuximida.** La etosuximida administrada en el núcleo reticular del tálamo rostral no modifica la sincronización entre la corteza frontal y occipital. Note una mayor sincronización en las frecuencias de 1.56 - 6.25 Hz con una coherencia de un  $54.2\% \pm 1.6\%$  ( $\bar{X} \pm E.E.M.$ ).



**Figura 34. Coherencia cerebral entre la corteza frontal (CxF) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) después de la administración de etosuximida.** La etosuximida administrada en el núcleo reticular del tálamo rostral no modifica la sincronización entre estas dos regiones. Note una mayor sincronización en las frecuencias de 1.56 - 6.25 Hz con una coherencia de un 54.2 %  $\pm$  1.6 % ( $\bar{x} \pm$  E.E.M.).



**Figura 35. Coherencia cerebral entre la corteza occipital (CxO) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) después de la administración de etosuximida.** La etosuximida administrada en el núcleo reticular del tálamo rostral no modifica la sincronización entre estas dos regiones. Note una sincronización predominante en las frecuencias de 5.47 - 7.42 Hz y 12.5 - 13.28 Hz con una coherencia cerebral de un 88.9 %  $\pm$  0.9 % y 90.8 %  $\pm$  0.6 %, respectivamente.



**Figura 36. Efecto de la administración de etosuximida en las descargas espiga-onda.** La administración de etosuximida disminuye la (B) duración de las pre-DEO-CxF durante la segunda hora después de su administración con la dosis de 100 µg/µL (\*  $P < 0.05$ ). Por otro lado, no produce cambios significativos en la (A) frecuencia de las pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal (pre-DEO-CxF), en la frecuencia y la duración de las (C, D), descargas aisladas espiga-onda en la corteza frontal (DEO-CxF), (E, F) ni en el núcleo reticular del tálamo (DEO-NRT).

### Mibefradil

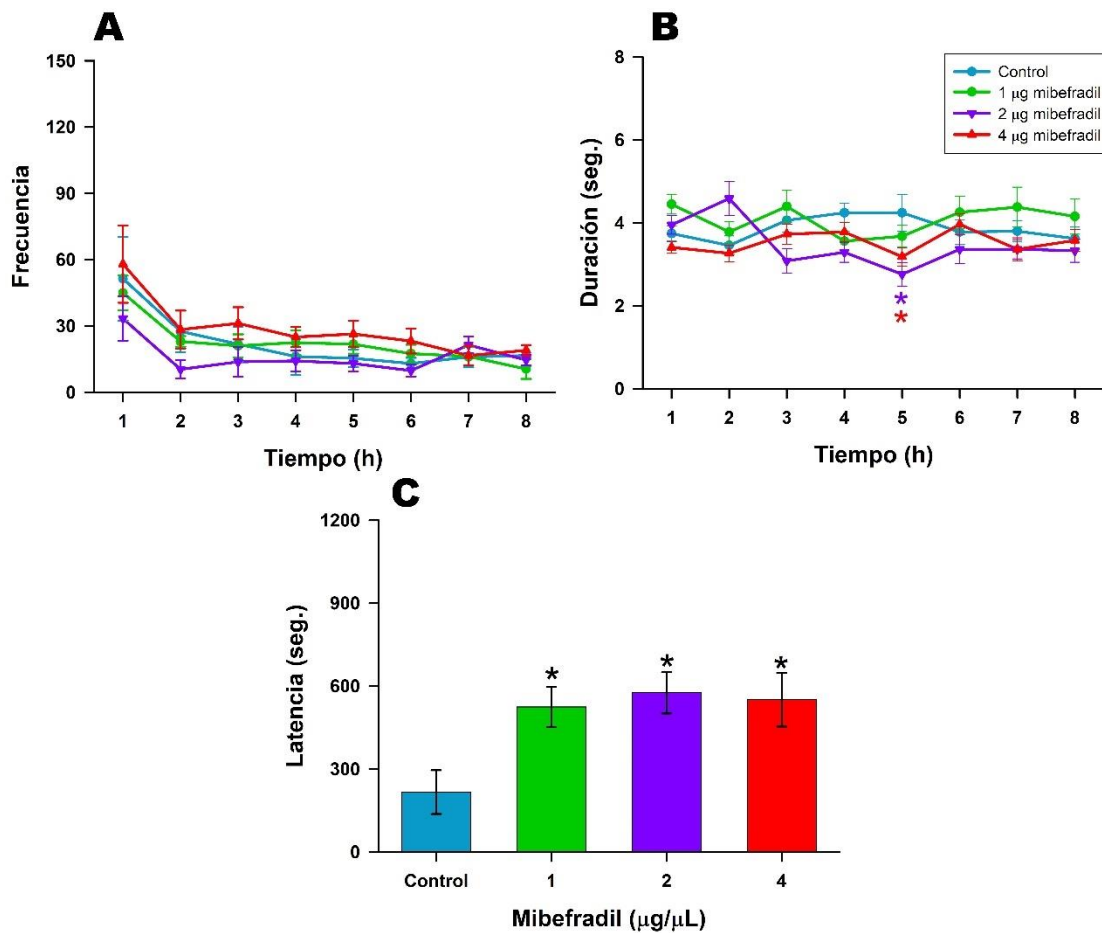
De manera similar que lo obtenido con la etosuximida, la administración de mibefradil, el fármaco bloqueador específico de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T, no modificó el número de crisis de ausencia (véase Figura 37A), pero si su duración, disminuyendo significativamente durante la quinta hora después de su administración hasta un 35% con las dosis de 2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $2.7 \pm 0.2$  s) y 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $3.1 \pm 0.2$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.9$  y  $P < 0.01$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto al control ( $4.2 \pm 0.4$  s; véase Figura 37B). En este mismo sentido, el mibefradil incrementó 2.5 veces la latencia a la primera crisis con las tres dosis, 1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $524 \pm 72$  s), 2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $575 \pm 74$  s) y 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $550 \pm 90$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.8$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ; véase Figura 37C; Tabla 5).

La administración de etosuximida en el núcleo reticular del tálamo rostral no afectó el ritmo de las descargas espiga-onda, manteniéndose un componente principal de 6.25 Hz de frecuencia con cada dosis del fármaco en cada hora del registro (véase Figura 38).

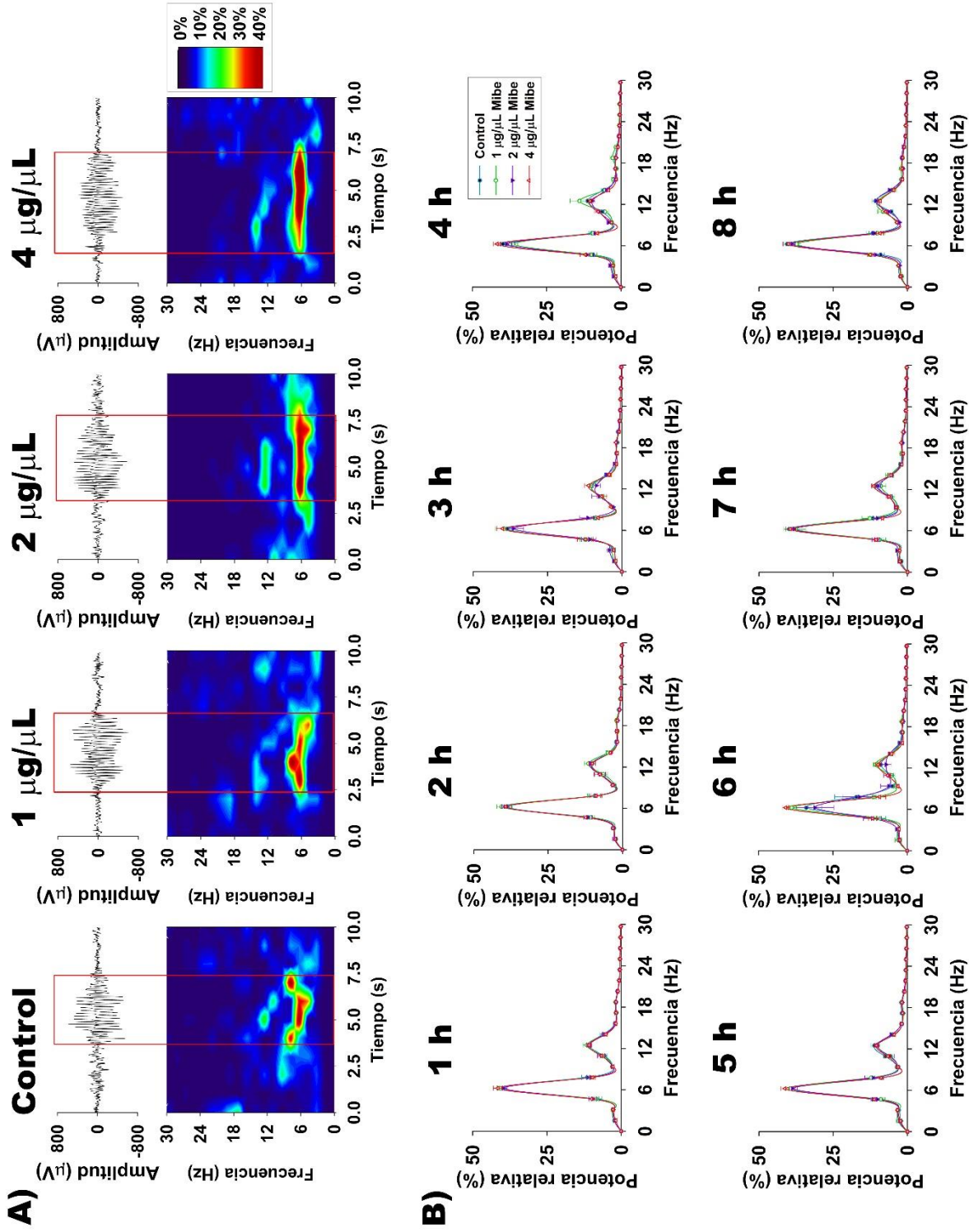
La coherencia cerebral entre la corteza frontal y occipital aumentó para las frecuencias de 1.56 - 6.25 Hz durante la tercera hora después de la administración de mibefradil hasta 1.5 veces con las dosis de 2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $81.5 \% \pm 5 \%$ ; ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.9$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) y 1.1 veces 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $61.4 \% \pm 3 \%$ ; ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.0$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto al control ( $55.4 \% \pm 2 \%$ ; véase Figura 39). Por otro lado, el mibefradil no modificó la sincronía de la corteza frontal y la occipital entre el núcleo reticular del tálamo manteniendo la coherencia cerebral (Figura 40 y 41; Tabla 7).

La administración de mibefradil aumento la duración de las descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo hasta 2.13 veces durante la segunda hora de la administración de la dosis de 4  $\mu\text{g}$  ( $1.2 \pm 0.1$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 8.5$  y  $P < 0.001$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.001$ ) respecto al grupo control ( $0.6 \pm$

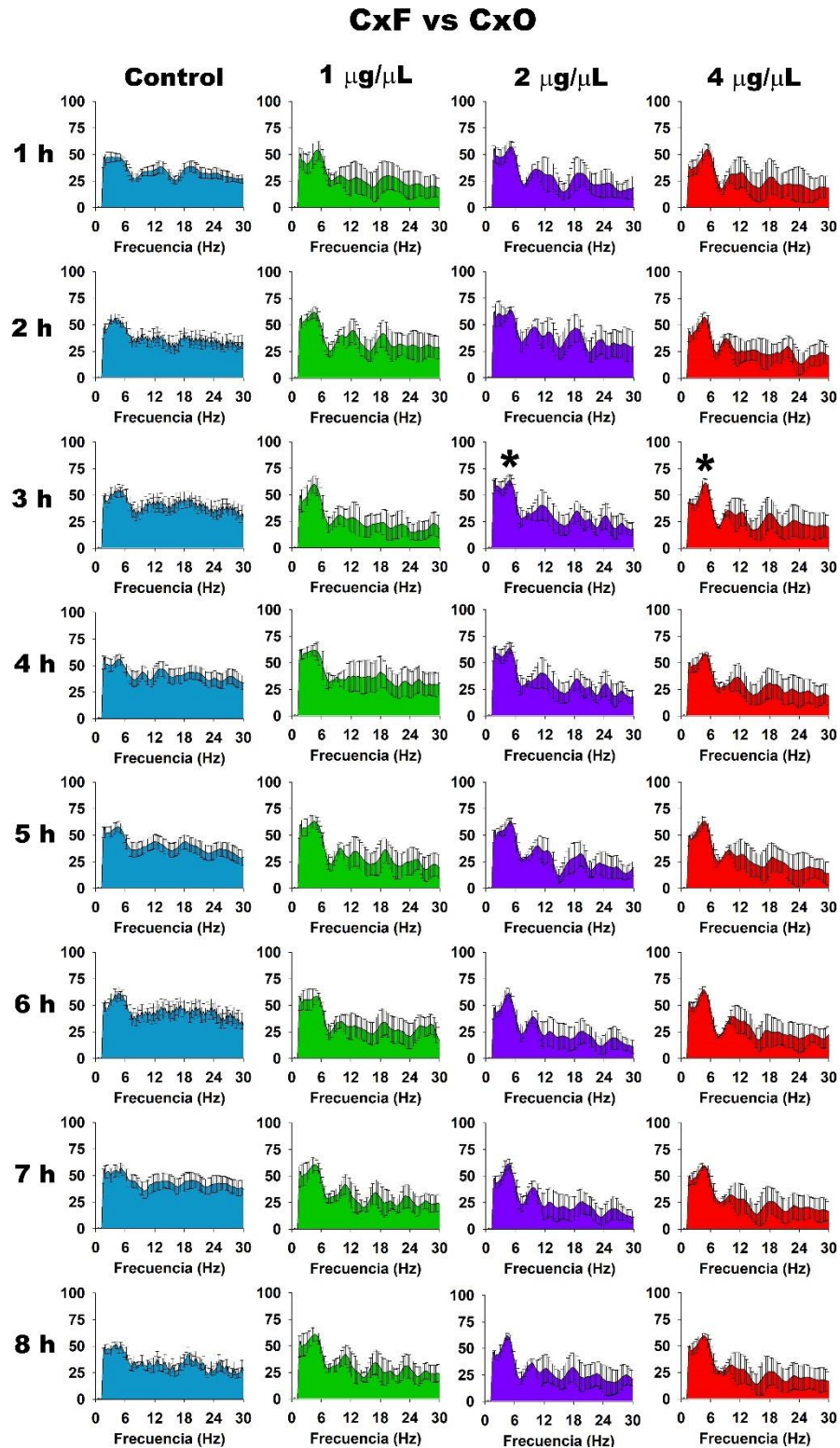
0.06 s). Mientras que no produjo cambios en la frecuencia ni en la duración de las descargas espiga-onda de la corteza frontal (véase Figura 42; Tabla 8).



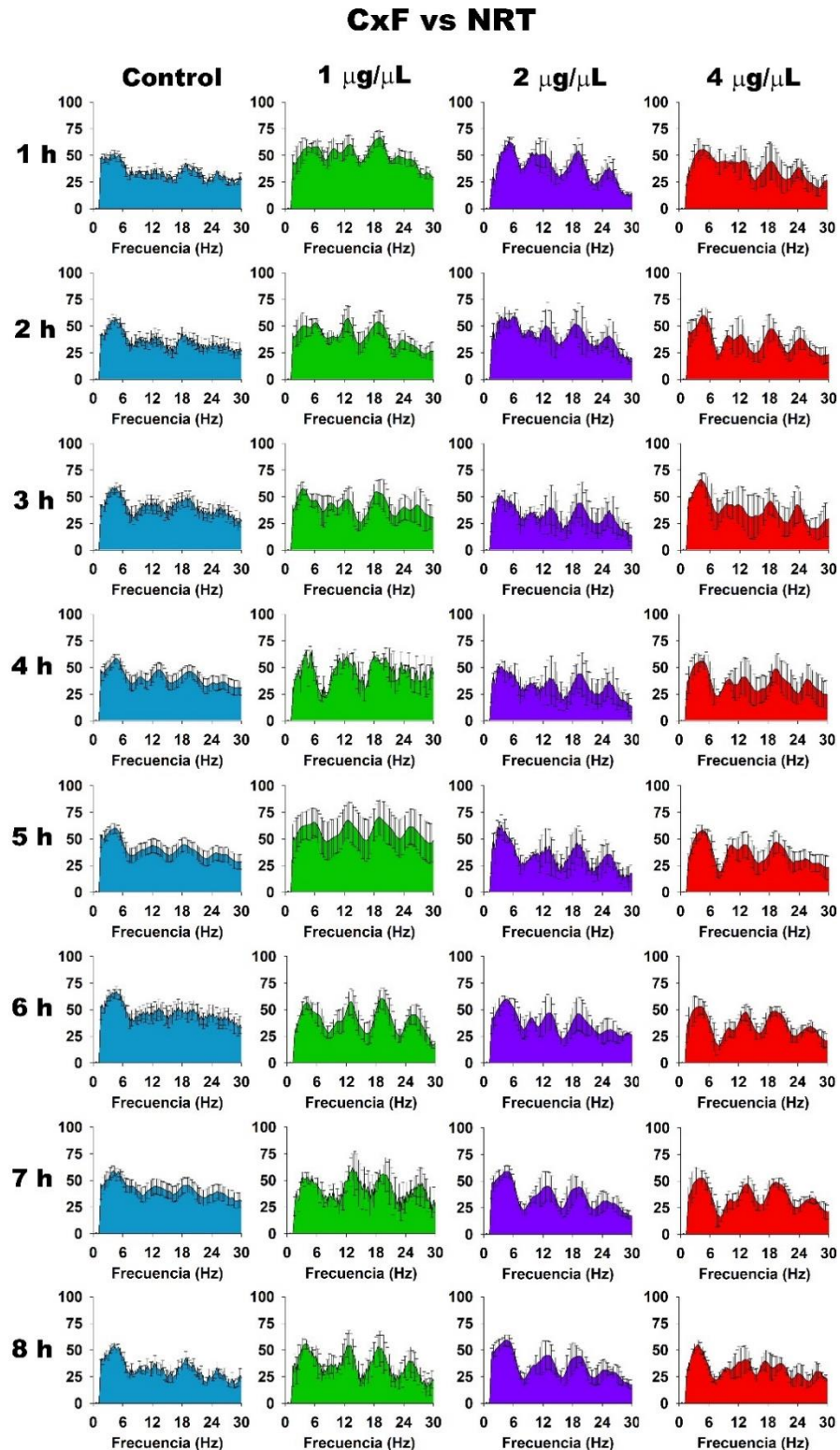
**Figura 37. Efecto de la administración de mibefradil en el núcleo reticular talámico rostral sobre las crisis de ausencia.** La administración de mibefradil no produjo cambio en **A)** el número de crisis, pero sí **B)** en la duración de las crisis de ausencia, disminuyendo significativamente en la quinta hora después de la administración de las dosis de 2 y 4 µg/µL. En este mismo contexto, **C)** la latencia para la primera crisis se incrementa hasta 2.5 veces. \*  $P < 0.05$  respecto al grupo control.



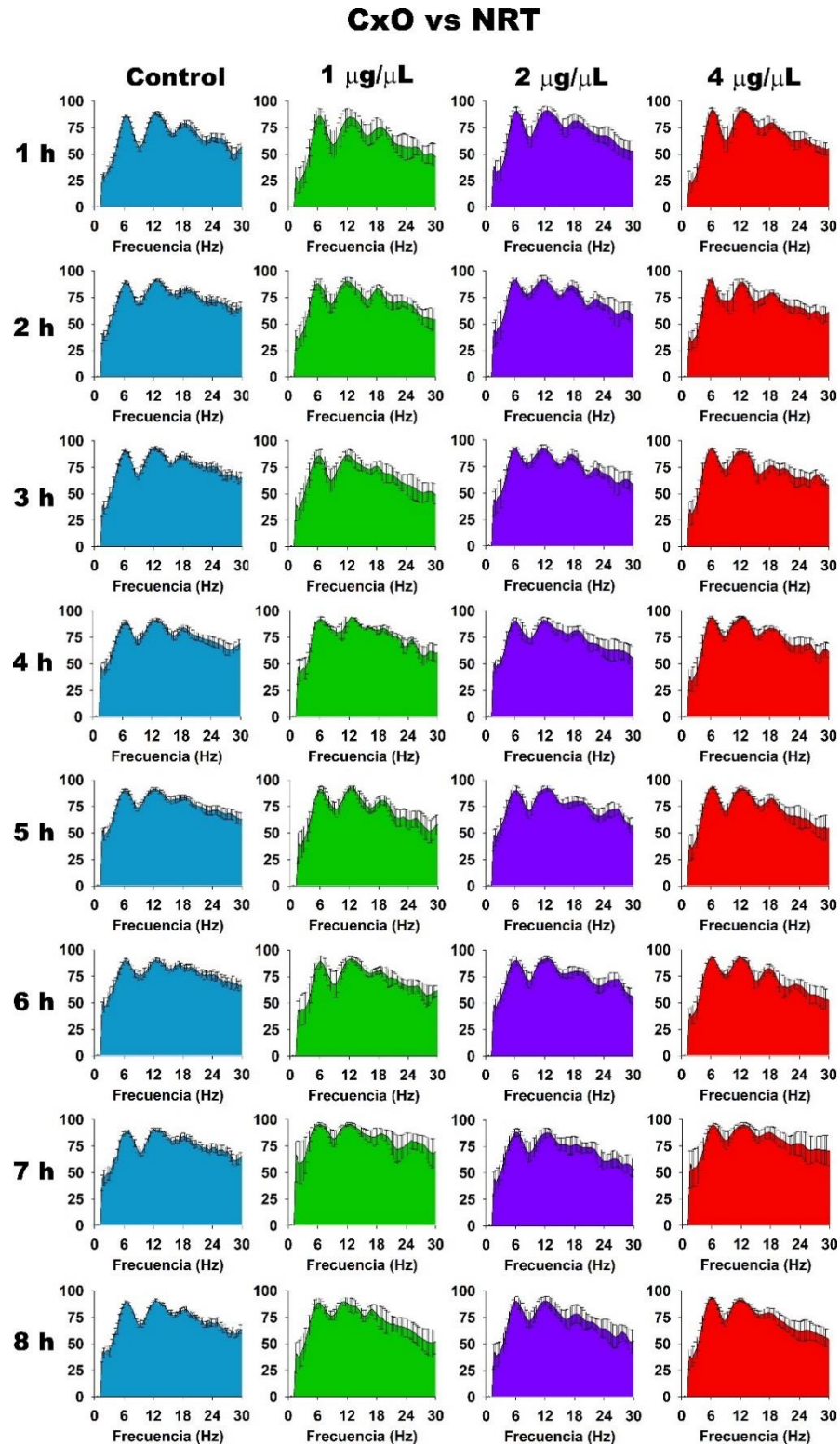
**Figura 38. Efecto de la administración de mibefradil en el espectro de potencia de las descargas espiaga-onda.** La administración de mibefradil no afecta el ritmo de las descargas espiaga-onda. En **A)** se puede observar una descarga espiaga-onda de una crisis de ausencia por cada dosis de mibefradil con su respectivo espectro de potencia a través del tiempo. En **B)** se grafican los espectros de potencia del grupo control y de cada dosis por cada hora durante las 8 h de registro después de la administración de mibefradil. Note que el componente principal de las descargas espiaga-onda se mantiene en  $6.25 \pm 0$  Hz como la frecuencia principal



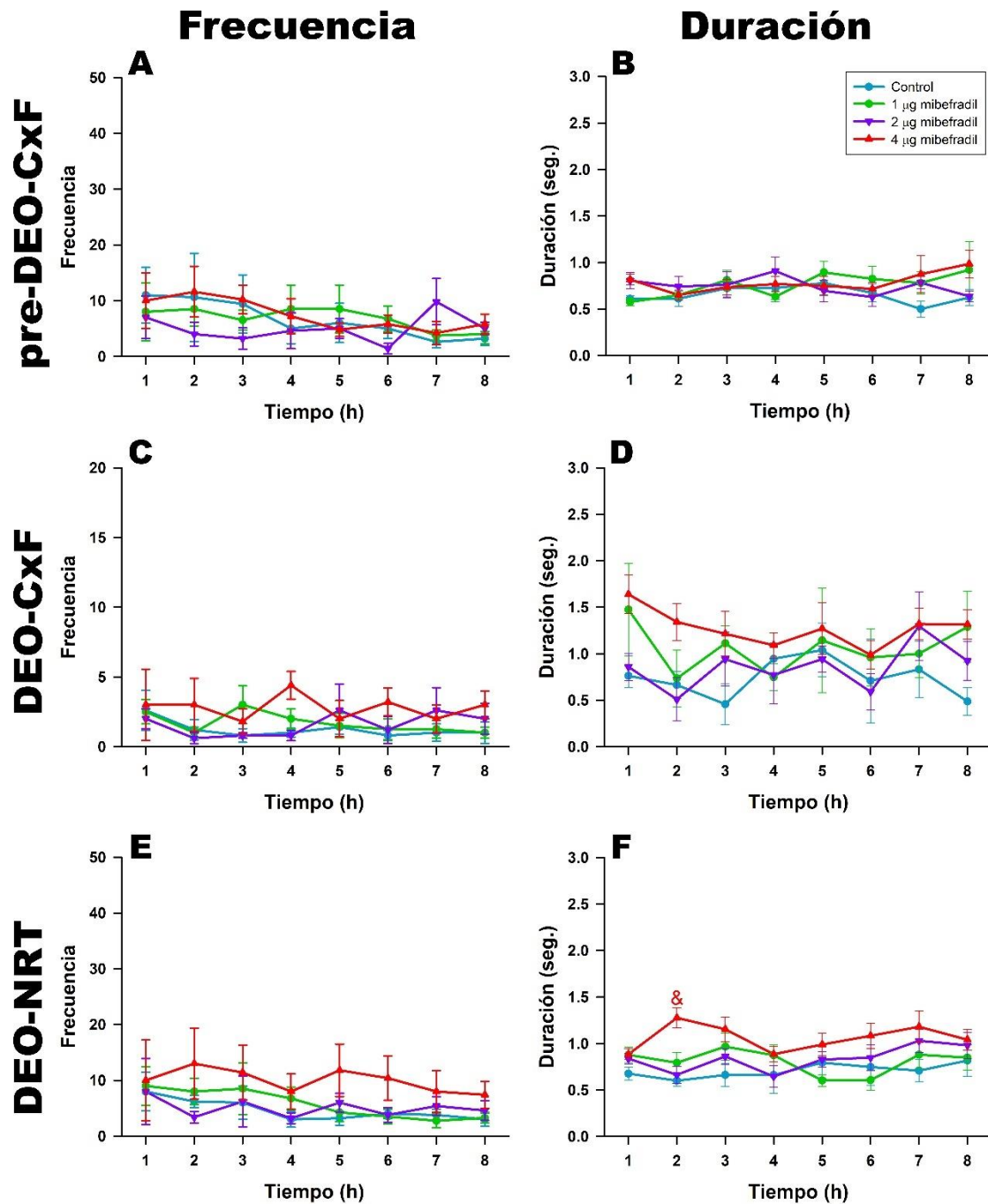
**Figura 39. Coherencia cerebral entre la corteza frontal (CxF) y la occipital (CxO) después de la administración de mibefradil.** El mibefradil administrado en el núcleo reticular del tálamo rostral aumentó la coherencia cerebral durante la tercera hora para las frecuencias de 1.56 - 6.25 Hz hasta 1.5 veces con las dosis de 2 y 4 µg/µL (\*  $P < 0.05$ ).



**Figura 40. Coherencia cerebral entre la corteza frontal (CxF) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) después de la administración de mibefradil. El mibefradil no modifica la sincronización entre la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo.**



**Figura 41. Coherencia cerebral entre la corteza occipital (CxO) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) después de la administración de mibefradil. El mibefradil administrado en el núcleo reticular del tálamo rostral no modifica la sincronización entre estas dos regiones cerebrales.**



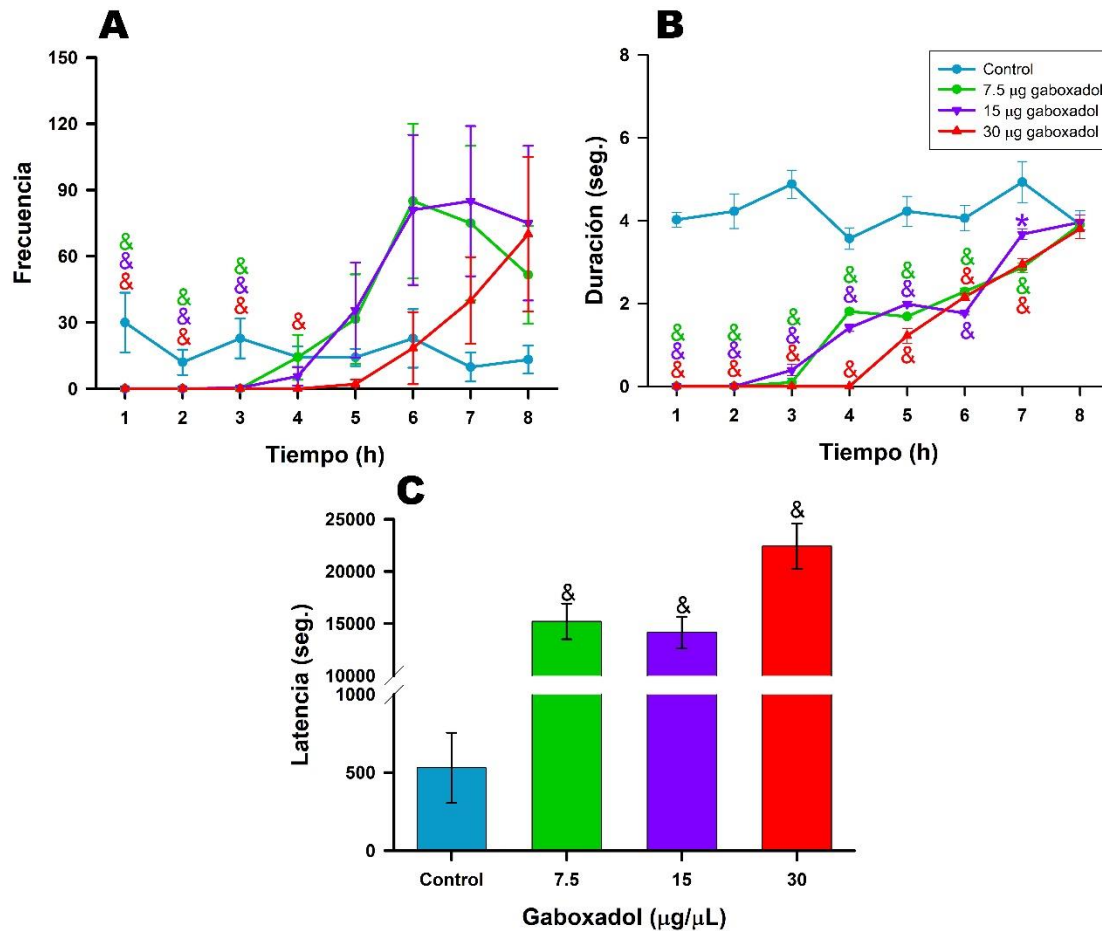
**Figura 42. Efecto de la administración de mibefradil en las descargas espiga-onda.** La administración de mibefradil aumentó significativamente (**F**) la duración de las descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo (DEO-NRT), sin producir cambios significativos en (**A**) la frecuencia y la (**B**) duración de las pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal (pre-DEO-Cx), ni en (**E, F**) las descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal (DEO-Cx).

### **9.5 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE GABAÉRGICOS EN EL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO ROSTRAL**

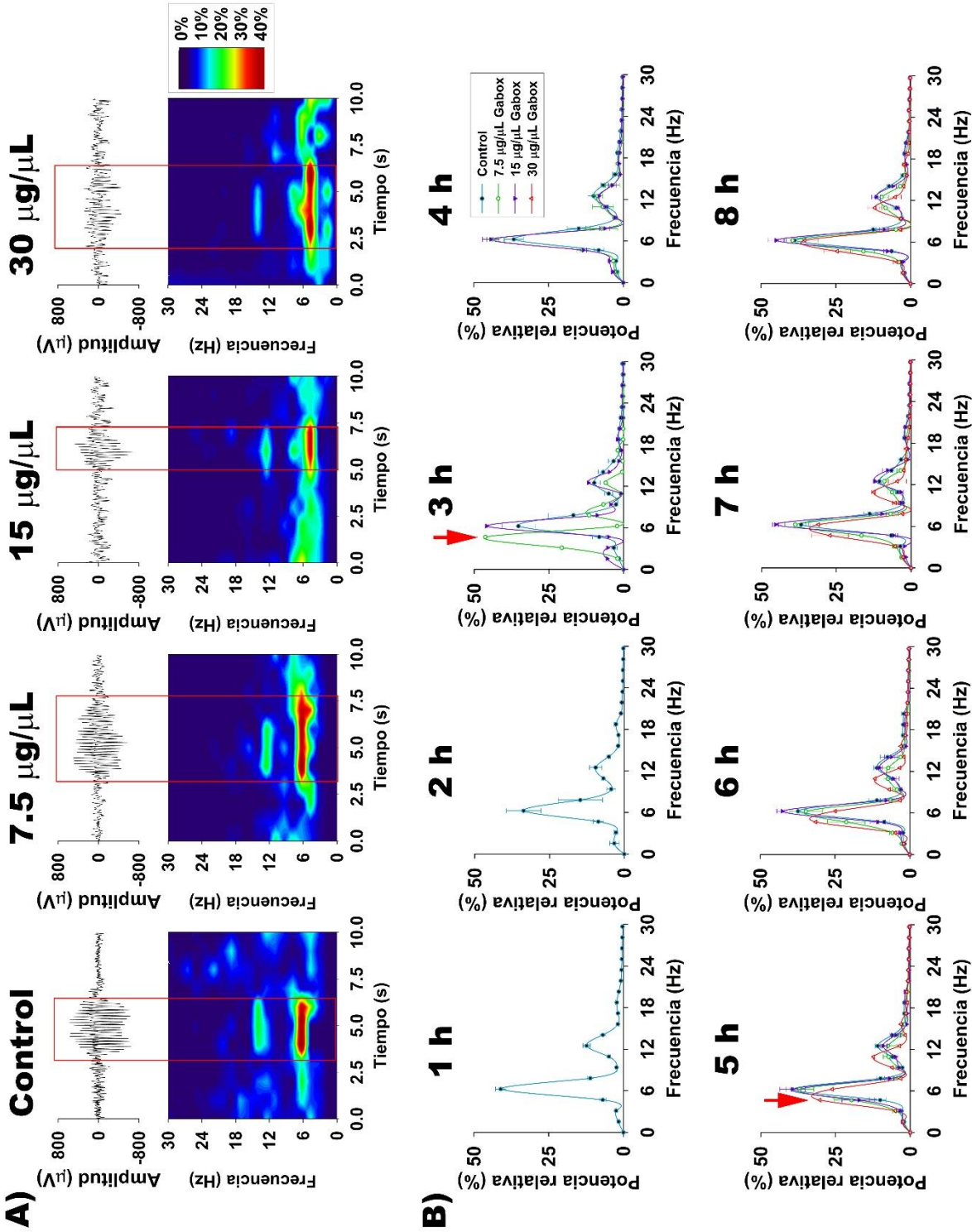
#### **Gaboxadol**

La estimulación del receptor GABA<sub>A</sub> en el núcleo reticular del tálamo rostral, a través de la administración del agonista específico, el gaboxadol, abolió las crisis de ausencia durante las primeras tres horas del registro con las dosis de 7.5 y 15 µg/µL, y hasta cuatro horas con la dosis de 30 µg/µL (ANOVA  $F_{(3,7)} = 20$  y  $P < 0.001$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.001$ ; Figura 43A y B). En este mismo sentido, se incrementó la latencia para que se presente la primera crisis hasta 28 veces con las dosis de 7.5 µg/µL ( $15,206 \pm 1714$  s) y de 15 µg/µL ( $14,146 \pm 1,512$  s); la cual se incrementó hasta 42 veces con la dosis de 30 µg/µL ( $22,425 \pm 2,178$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 33$  y  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.001$ ) respecto del grupo control con una latencia de  $529 \pm 224$  s (véase Figura 43C). Posterior a la abolición hubo una tendencia a incrementarse el número de crisis de ausencia; por otro lado, la duración de las crisis fue incrementando desde la primera crisis hasta alcanzar la duración del grupo control 8 horas después de la administración del fármaco (Tabla 5).

El gaboxadol modificó la frecuencia de las descargas espiga-onda, disminuyendo a 4.69 Hz para las primeras descargas espiga-onda en aparecer después de la administración del gaboxadol. Adicionalmente, el registro electroencefalográfico mostro ritmo delta de base como se puede observar en la Figura 44A con las dosis de 15 y 30 µg/µL. Posteriormente a la siguiente hora de la presentación de la primera descarga espiga-onda, las descargas tienen frecuencias de 6.25 Hz con las dosis de 7.5 y 15 µg/µL, demorándose hasta dos horas con la dosis de 30 µg/µL (véase Figura 44B).



**Figura 43. Efecto de la administración de gaboxadol en el núcleo reticular talámico rostral sobre las crisis de ausencia.** La administración de gaboxadol abolió las crisis de ausencia durante las primeras tres horas con las dosis de 7.5 y 15 µg/µL, y hasta 4 horas con la dosis máxima (A, frecuencia; B, duración de las crisis), por lo que (C) la latencia para la primera crisis se incrementa hasta 42 veces con esta dosis en respecto a lo obtenido con el grupo control. Después de la aparición de la primera crisis, se muestra una tendencia a incrementarse el número de crisis; mientras que su duración se incrementó hasta alcanzar al grupo control a las 8 horas. \*  $P < 0.05$ , &  $P < 0.001$  respecto al grupo control.



**Figura 44. Efecto de la administración de gaboxadol en el espectro de potencia de las descargas espiga-onda.** En **A**) se puede observar una descarga espiga-onda de una crisis de ausencia por cada dosis de gaboxadol. Note como el gaboxadol disminuye la frecuencia de las descargas a 4.69 Hz de 6.25 Hz en el control. Adicionalmente, se puede apreciar un ritmo lento de base en el electroencefalograma con las dosis de 15 y 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ . **B)** Espectros de potencia del grupo control y de cada dosis por cada hora durante el registro. Posterior a la siguiente hora de la presentación de la primera descarga espiga-onda (flecha roja), las descargas adquirieron frecuencias de 6.25 Hz con las dosis de 7.5 y 15  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , demorándose hasta dos horas con la dosis de 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  para recuperar la frecuencia previa a la administración del fármaco.

El gaboxadol de 7.5 y 15  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  incrementó la sincronía durante la tercera hora después de su administración en todas las frecuencias con una coherencia cerebral del 100 % entre la corteza frontal y occipital (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.9$  y  $P < 0.05$ ; véase Figura 45), corteza frontal y núcleo reticular del tálamo (ANOVA  $F_{(3,7)} = 5.1$  y  $P < 0.05$ ; véase Figura 46) y la corteza occipital y el núcleo reticular del tálamo (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.6$  y  $P < 0.05$ ; véase Figura 47) en contraste con sus respectivos controles.

Durante la cuarta hora después de la administración de 15  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  se incrementó la coherencia cerebral entre las cortezas frontal y occipital en las frecuencias de 5.86 - 6.64 Hz al 88.2 %  $\pm$  0%, de 10.55 - 14.45 Hz al 92.6 %  $\pm$  0 %, de 15.23 - 19.14 Hz al 97.0 %  $\pm$  0 %, y de 23.8 - 30 Hz al 87.9 %  $\pm$  0 % (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.9$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto al control (Figura 45). Esta misma dosis incremento la coherencia cerebral entre la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo entre las frecuencias de 1.95 - 2.34 Hz con un 76.1 %  $\pm$  0 %, de 5.08 - 6.64 Hz con un 85.0 %  $\pm$  0 %, de 13.67 - 14.45 Hz con un 91.2 %  $\pm$  0 %, de 16.0 - 18.36 Hz con un 88.2 %  $\pm$  0 %, de 23.05 - 24.61 Hz con un 85.2 %  $\pm$  0 %, y de 29.69 - 30.0 Hz con un 88.9 %  $\pm$  10 % (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.3$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto al control (véase Figura 46). Entre la corteza occipital y el núcleo reticular del tálamo se obtuvo incremento en la frecuencia de 1.53 - 3.52 Hz al 89.8 %  $\pm$  5.5 % (ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.5$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto del grupo control (véase Figura 47).

En este mismo contexto, la quinta hora después de la administración de la dosis de 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  de gaboxadol incrementó significativamente la coherencia cerebral entre las cortezas frontal y occipital a las frecuencias de 2.73 - 4.3 Hz con un 74.7 %  $\pm$  0 %, y de 29.30 - 30.0 Hz hasta un 69.9 %  $\pm$  0 % (ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.6$  y  $P <$

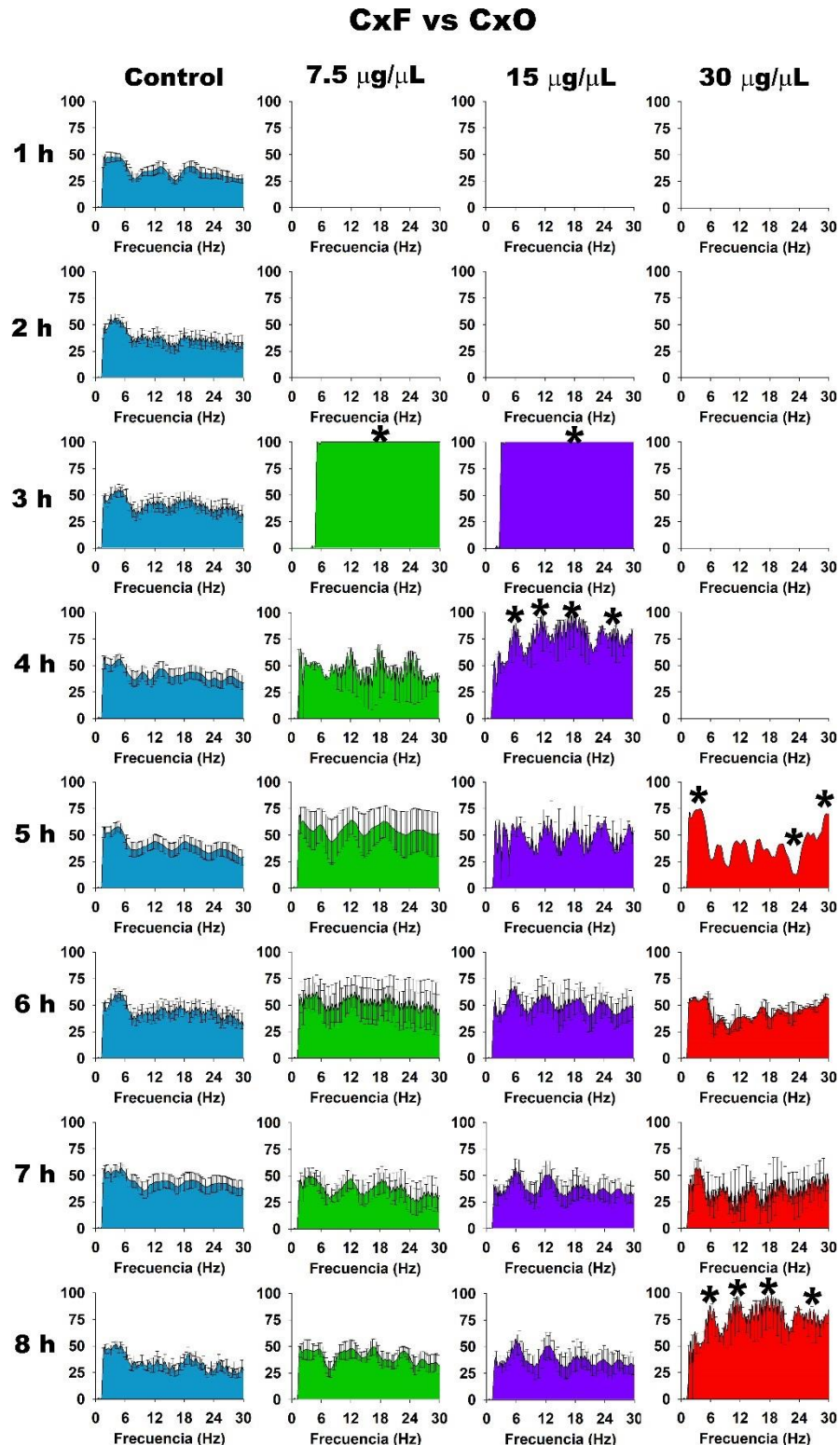
0.05, seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ), disminuyendo la coherencia cerebral en la frecuencia de 22.27 - 23.87 Hz en un  $13.15 \% \pm 0 \%$  (ANOVA  $F_{(3)} = 3.6$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ), en contraste a sus respectivos controles (véase Figura 45). De la misma manera se incrementó significativamente la coherencia entre la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo en las frecuencias de 1.56 - 4.30 Hz hasta un  $82.13 \% \pm 0 \%$ , y de 24.61 - 25.0 Hz con un  $70.57 \% \pm 0 \%$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.5$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ), respecto del control (véase Figura 46).

Durante la octava hora, la administración de la dosis de  $30 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  incrementó la coherencia cerebral entre las cortezas frontal y occipital para las frecuencias de 5.86 - 6.64 Hz hasta un  $88.2 \% \pm 0 \%$ ; de 9.77 - 12.11 Hz con un  $92.5 \% \pm 0 \%$ ; de 15.23 - 19.92 Hz de un  $97.0 \% \pm 0 \%$ ; y de 23.83 - 26.17 Hz con un  $87.9 \%$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.3$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ), respecto al control (véase Figura 45). También incrementó la coherencia cerebral entre la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo a las frecuencias de 1.95 - 2.34 Hz con un  $76.7 \% \pm 0 \%$ ; de 5.08 - 6.64 Hz hasta un  $85.3 \% \pm 0 \%$ ; de 13.67 - 14.45 Hz con un  $92.0 \% \pm 0 \%$ ; de 16.0 - 18.36 Hz de un  $88.0 \% \pm 0 \%$ ; de 23.05 - 24.61 Hz con un  $85.2 \% \pm 0 \%$ , y de 29.69 - 30.0 Hz con un  $88.9 \% \pm 0 \%$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.1$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto al control (véase Figura 46). En la sincronía entre la corteza occipital y el núcleo reticular del tálamo aumentó la coherencia cerebral para las frecuencias de 1.56 - 4.69 Hz hasta un  $89.0 \% \pm 0 \%$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.7$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ), y disminuyó para las frecuencias con un  $27.73 - 28.58$  al  $27.9 \% \pm 0 \%$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.1$  y  $P < 0.05$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ), respecto al control (véase Figura 47; Tabla 7).

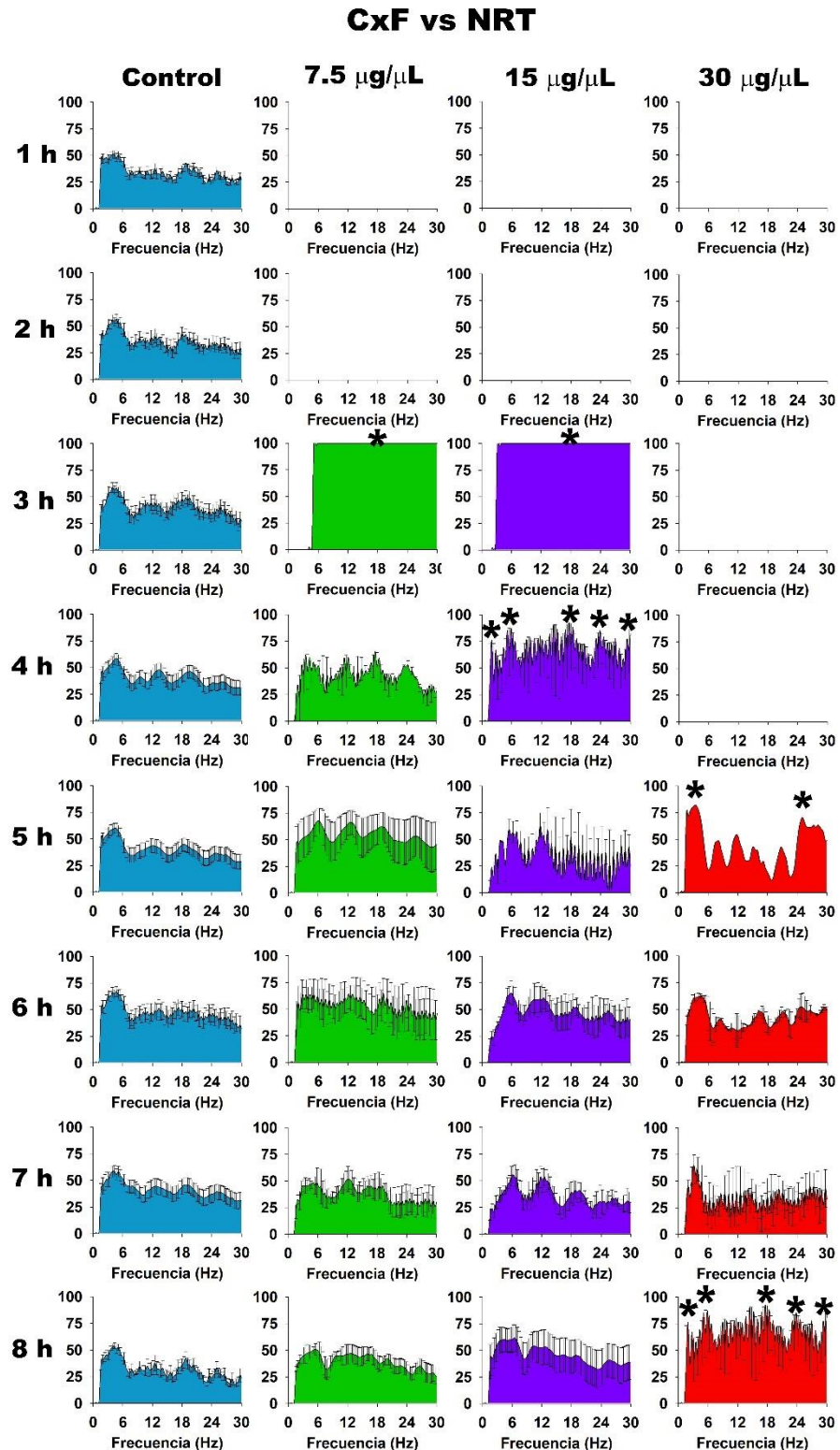
La inhibición GABAérgica del núcleo reticular del tálamo eliminó por tres horas las pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal con las dosis de 7.5 y  $15 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  y hasta por cinco horas con la dosis de  $30 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 7.3$  y  $P < 0.001$ ,

seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.001$ ; véase Figura 48A y B), con una tendencia a incrementarse en número después de que aparece la primera descarga espiga-onda. El número de descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal comenzaron a incrementarse a partir de la tercera y cuarta hora de la administración de gaboxadol sin alcanzar la significancia estadística respecto al control. Sin embargo, con la dosis de 15 y 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  disminuyeron significativamente su duración en la tercera hora hasta un 14% ( $0.1 \pm 0.07$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 13.1$  y  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.01$ ; véase Figura 48C y D) respecto al grupo control. Posteriormente obteniéndose un incremento de las descargas aisladas en la corteza frontal a la sexta y octava hora de hasta 2.2 veces con la dosis de 7.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $1.4 \pm 0.06$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 13.2$  y  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.01$ ), y hasta 1.5 veces con la dosis de 15  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $0.9 \pm 0.04$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 5.5$  y  $P < 0.001$ , seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.01$ ) respecto al control ( $0.6 \pm 0.1$  s).

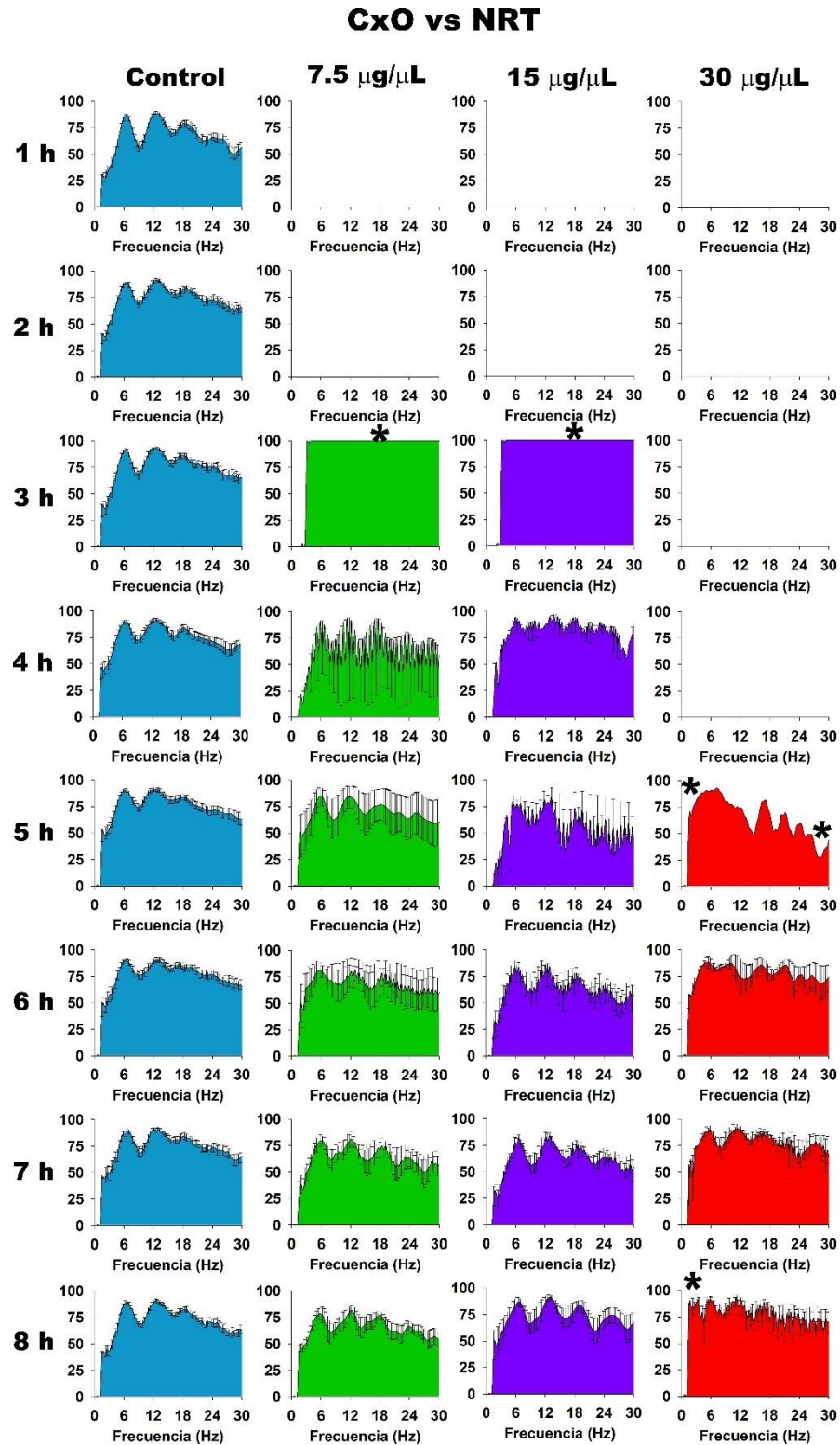
Las tres dosis de gaboxadol abolieron las descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo durante las primeras tres horas después de su administración (ANOVA  $F_{(3,7)} = 13.9$  y  $P < 0.001$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.001$ ; véase Figura 48E y F), con un incremento posterior de hasta 1.6 veces en la duración de las descargas a partir de la quinta hora con la dosis de 15  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ( $1.3 \pm 0.06$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 13.4$  y  $P < 0.001$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.01$ ) respecto al grupo control ( $0.8 \pm 0.1$  s). Adicionalmente, se obtuvo una tendencia a incrementar el número de descargas espiga-onda con la dosis de 7.5 y 30  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  (Tabla 8).



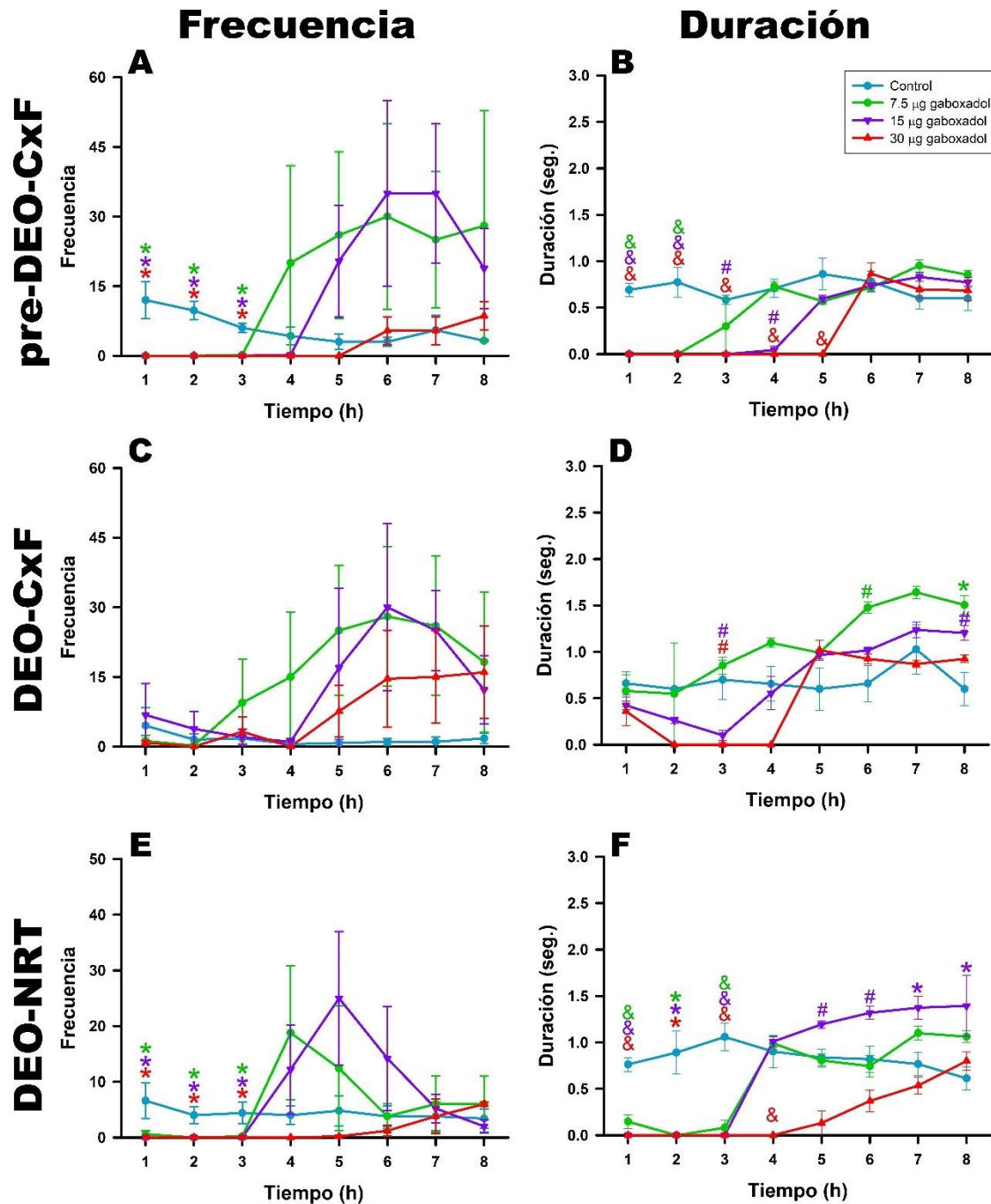
**Figura 45. Coherencia cerebral entre las cortezas frontal (CxO) y occipital (CxO) tras la administración de gaboxadol.** Con las dosis de 7.5 y 15 µg/µL las primeras descargas espiga-onda incrementaron la coherencia cerebral hasta el 100% en todas las frecuencias. Mientras que con la dosis de 30 µg/µL se obtuvo un incremento progresivo hasta la octava hora. \*  $P < 0.05$  respecto al registro control.



**Figura 46. Coherencia cerebral entre la corteza frontal (CxF) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) después de la administración de gaboxadol.** Con las dosis de 7.5 y 15 µg/µL las primeras descargas espiga-onda incrementaron la coherencia cerebral hasta el 100 % en todas las frecuencias. Mientras que con la dosis de 30 µg/µL se obtuvo un incremento progresivo hasta la octava hora. \*  $P < 0.05$  respecto al registro control.



**Figura 47. Coherencia cerebral entre la corteza occipital (CxO) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) tras la administración de gaboxadol.** Con las dosis de 7.5 y 15 µg/µL las primeras descargas espiga-onda incrementaron la coherencia cerebral hasta un 100 % en todas las frecuencias analizadas. Mientras que con la dosis de 30 µg/µL se obtuvo un incremento progresivo hasta la octava hora después de la administración del agonista GABA<sub>A</sub>. \*  $P < 0.05$  respecto al registro control.



**Figura 48. Efecto de la administración de gaboxadol en las descargas espiga-onda.** La administración de gaboxadol disminuye significativamente **(A)** el número y **(B)** la duración de las pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal (pre-DEO-Cx) y en **(E, F)** el núcleo reticular del tálamo (DEO-NRT), con un incremento significativo en la duración de las descargas en el núcleo reticular del tálamo cinco horas después de la administración. Adicionalmente, disminuye **(D)** la duración de las descargas aisladas en la corteza frontal (DEO-Cx) durante la tercera hora después de la administración, con un incremento a partir de las seis horas posteriores. Se obtuvo una tendencia a incrementarse **(C)** el número de descargas con las dosis de 7.5, 15 y 30 µg/µL. \*  $P < 0.05$ , #  $P < 0.001$ , &  $P < 0.001$  respecto al grupo control.

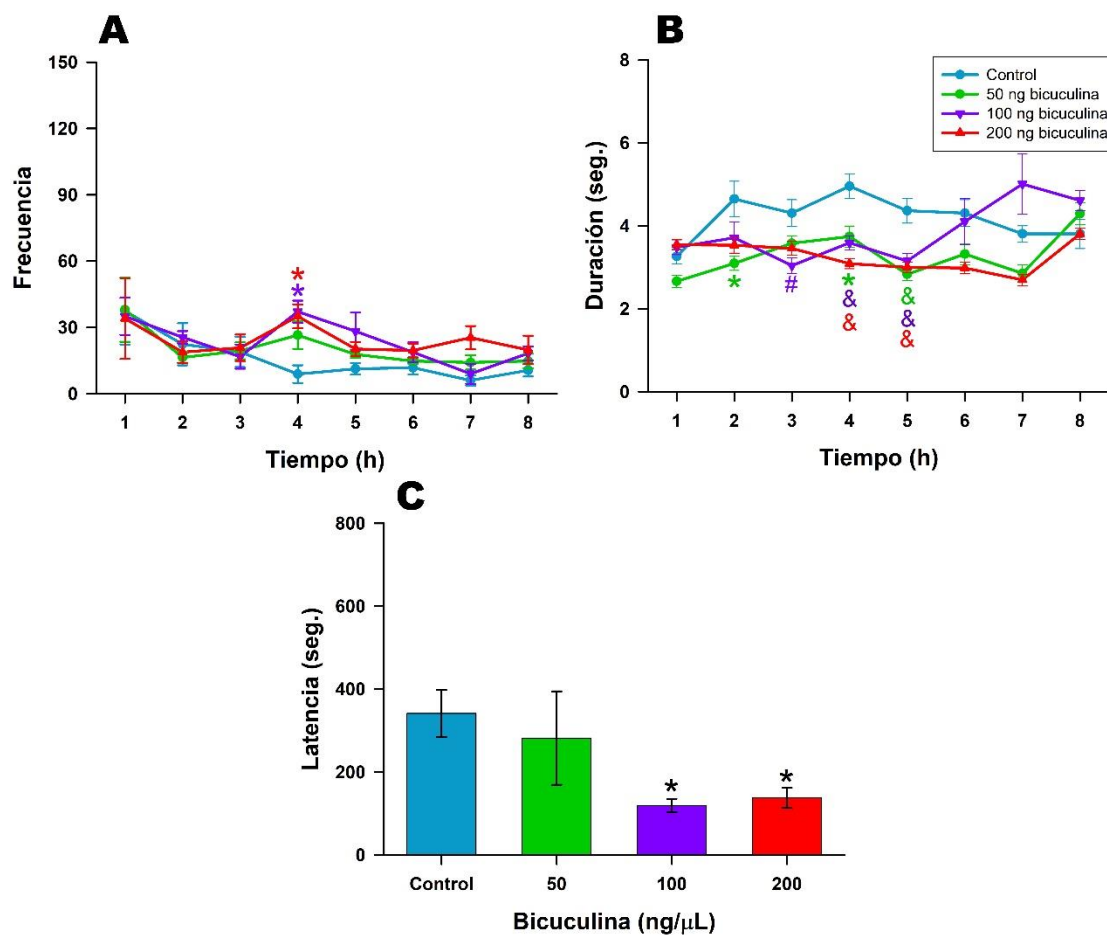
### Bicuculina

La administración del antagonista específico del receptor GABA<sub>A</sub>, bicuculina, aumentó significativamente el número de crisis de ausencia hasta 4 veces durante la cuarta hora después de la administración de la dosis de 100 ng/μL ( $37 \pm 4$  crisis) y 200 ng/μL ( $35 \pm 5$  crisis; ANOVA  $F_{(3)} = 3.2$  y  $P < 0.05$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ; véase Figura 49A) y disminuyendo la duración de las crisis hasta un 32 % durante la segunda a la quinta hora de la administración de las dosis de 50 ng ( $2.8 \pm 0.1$  s), 100 ng/μL ( $3.1 \pm 0.1$  s) y 200 ng/μL ( $2.9 \pm 0.1$  s; ANOVA  $F_{(3,7)} = 11.1$  y  $P < 0.001$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.001$ ) respecto al grupo control ( $8.8 \pm 3.9$  crisis, con  $4.3 \pm 0.2$  s; véase Figura 49B). Adicionalmente, la bicuculina disminuyó la latencia para que se presenta la primera crisis hasta en un 70 % con las dosis de 100 ng/μL ( $119 \pm 16$  s) y de 200 ng ( $137 \pm 24$  ng; ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.2$  y  $P < 0.05$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto al grupo control ( $341 \pm 56$  s; véase Figura 49C; Tabla 6).

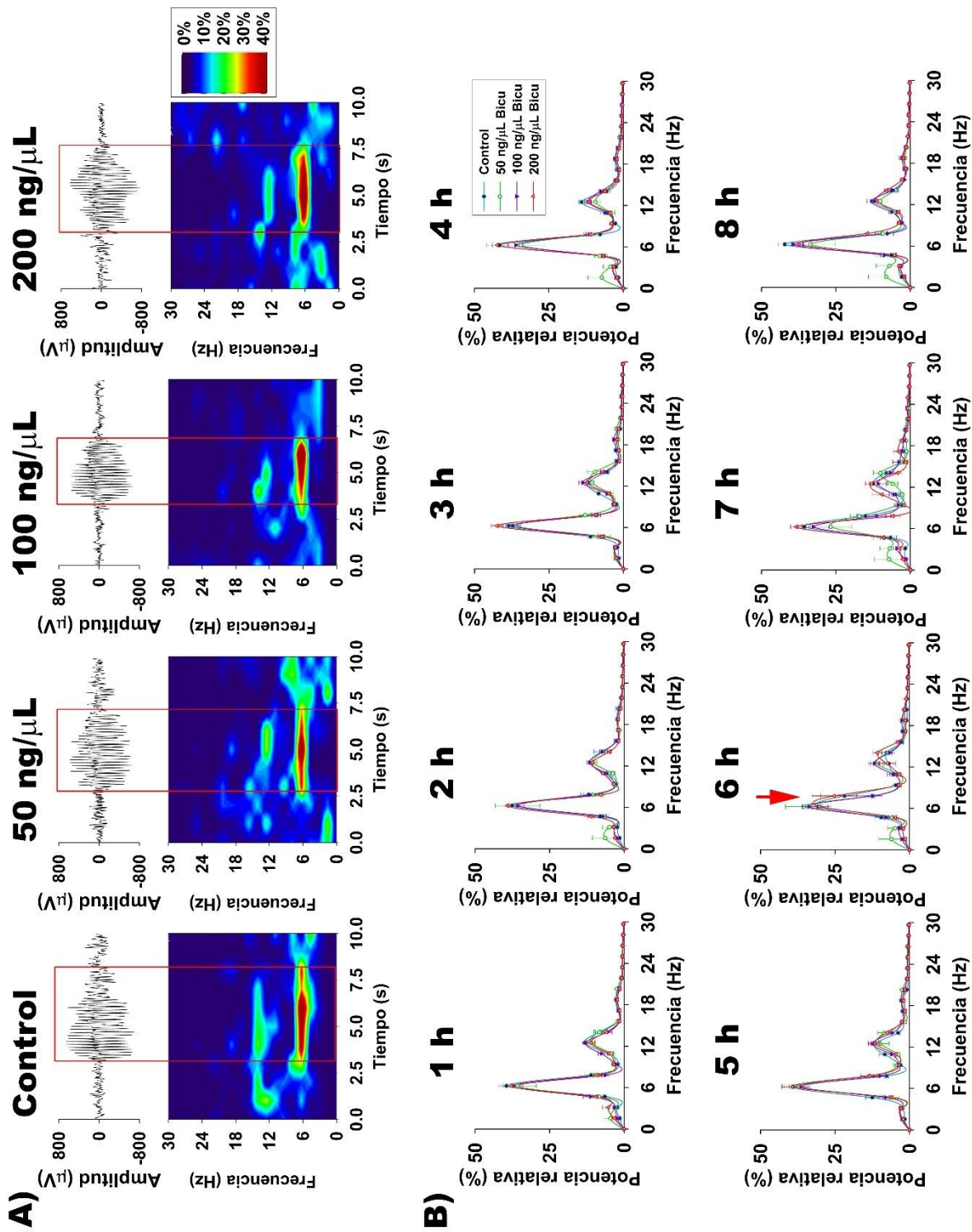
La administración de la dosis de 200 ng/μL de bicuculina aumentó durante la sexta hora la frecuencia de las descargas espiga-onda a 7.81 Hz de 6.25 Hz que muestran los controles (véase Figura 50). Las demás dosis no produjeron cambios en la frecuencia de las descargas manteniéndose en la frecuencia de 6.25 Hz.

Las tres dosis de bicuculina incrementaron la coherencia cerebral entre las cortezas frontal y occipital, y la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo, durante la primera hora después de su administración. La coherencia cerebral se incrementó entre las cortezas frontal y occipital en las frecuencias de 4.3-7.42 Hz al  $66.47 \% \pm 5 \%$ , de 8.20 - 10.94 Hz al  $59.10 \% \pm 9 \%$ , y de 15.63 - 19.53 Hz al  $71.28 \% \pm 5 \%$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.3$  y  $P < 0.05$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto de sus controles (véase Figura 51). Entre la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo se incrementó en las frecuencias de 7.81 -10.55 Hz al  $56.6 \% \pm 9 \%$ , y de 16.02 - 19.92 Hz hasta un  $66.9 \% \pm 7 \%$  (ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.5$  y  $P < 0.05$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ) respecto al control (véase Figura 52). La bicuculina no modificó la coherencia cerebral entre la corteza occipital y el núcleo reticular del tálamo (véase Figura 53; Tabla 7).

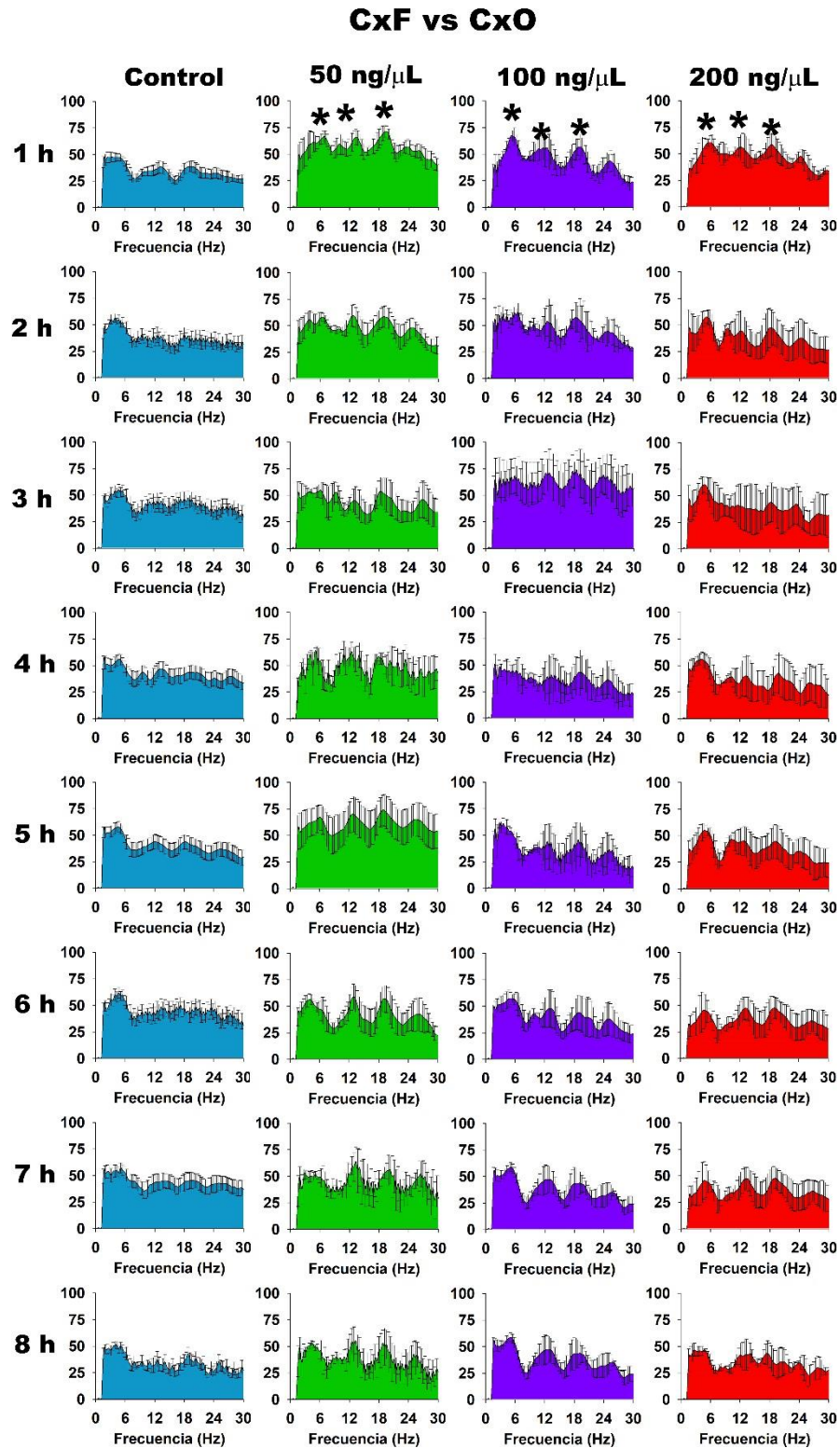
Adicionalmente, la administración de bicuculina no modificó las descargas espiga-onda en la corteza frontal, pero sí produjo un aumento de hasta tres veces el número de descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo, durante la primera hora después de la administración de las tres dosis ( $16 \pm 3$  descargas espiga-onda; ANOVA  $F_{(3,7)} = 3.2$  y  $P < 0.05$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ; véase Figura 54E), incrementando también la duración de estas descargas hasta 1.5 veces con la dosis de  $200 \text{ ng}/\mu\text{L}$  ( $1 \pm 0.05 \text{ s}$ ; ANOVA  $F_{(3,7)} = 4.1$  y  $P < 0.05$  seguido de la prueba de Bonferroni,  $P < 0.05$ ; Figura 54F), respecto al control ( $5 \pm 1$  descargas espiga-onda de  $0.5 \pm 0.05 \text{ s}$  de duración; Tabla 8).



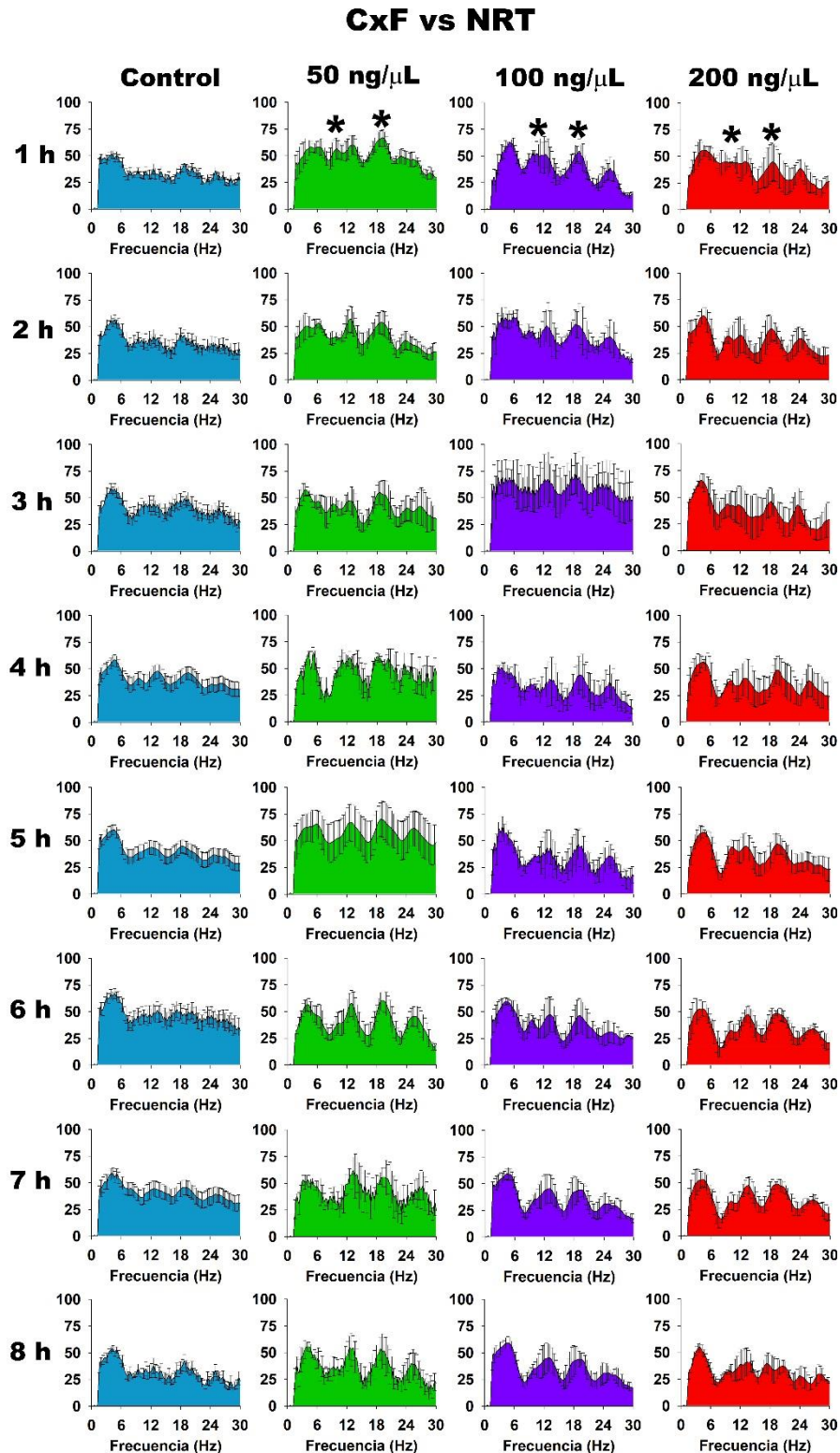
**Figura 49. Efecto de la administración de bicuculina en el núcleo reticular talámico rostral sobre las crisis de ausencia.** Cuatro horas después de la administración de bicuculina, aumentó el número de las crisis de ausencia, y disminuyó significativamente su duración (**A**, frecuencia; **B**, duración de las crisis). (**C**) La latencia para la primera crisis de ausencia disminuye hasta en un 70% con las dosis de 100 y 200  $\text{ng}/\mu\text{L}$  respecto al control. \*  $P < 0.05$ , #  $P < 0.01$ , &  $P < 0.001$ .



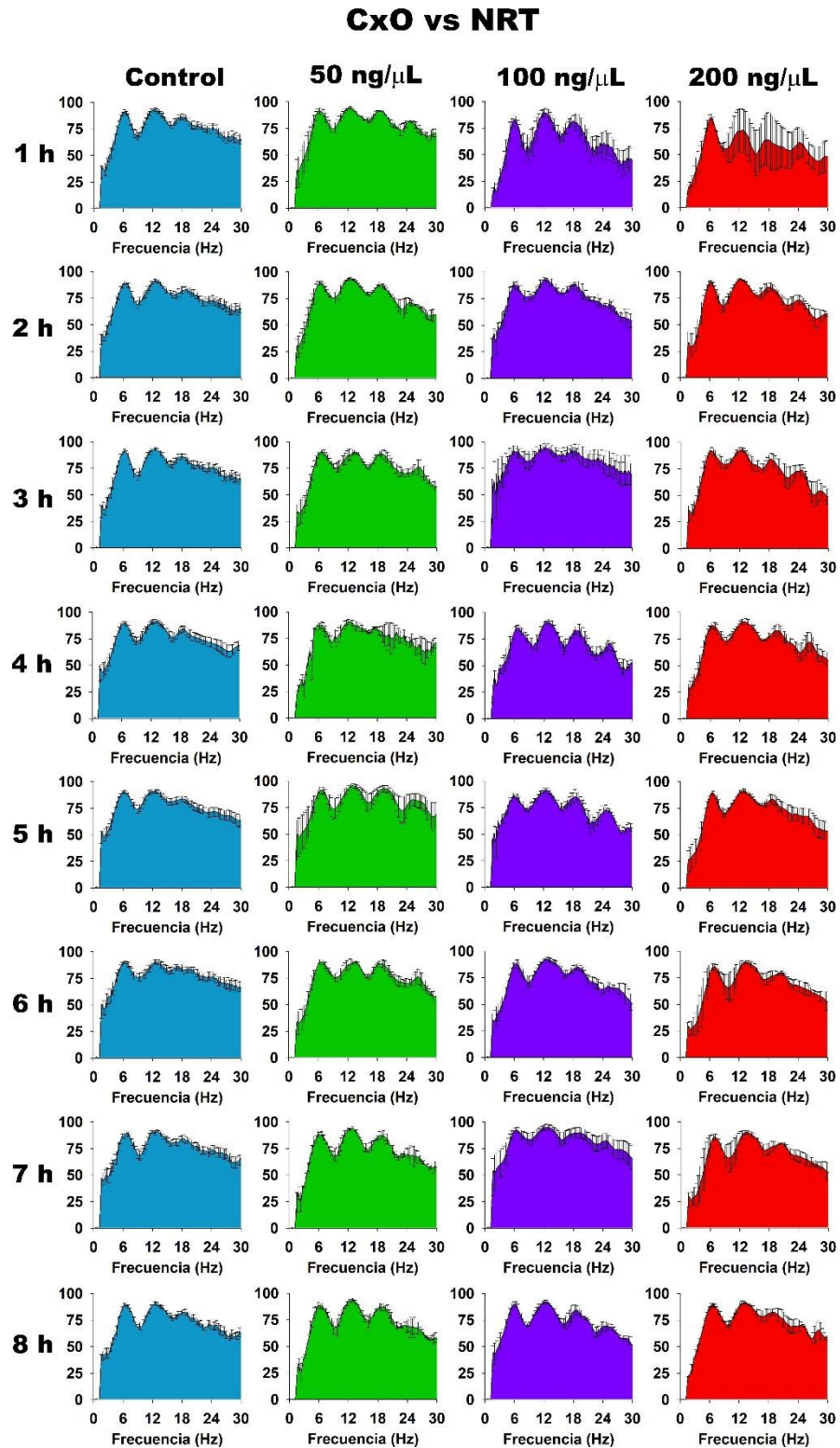
**Figura 50. Efecto de la administración de bicuculina en el espectro de potencia de las descargas espiga-onda.** En **A)** se puede observar una descarga espiga-onda de una crisis de ausencia con cada dosis de bicuculina y su respectivo espectro de potencia a través del tiempo. En **B)** se grafican los espectros de potencia del grupo control y con cada dosis de bicuculina y su evolución temporal. Note que a la sexta el componente principal de las descargas espiga-onda con la dosis de 200 ng/μL aumento su frecuencia a 7.81 Hz (flecha roja) en comparación de 6.25 Hz de las descargas espiga-onda del control.



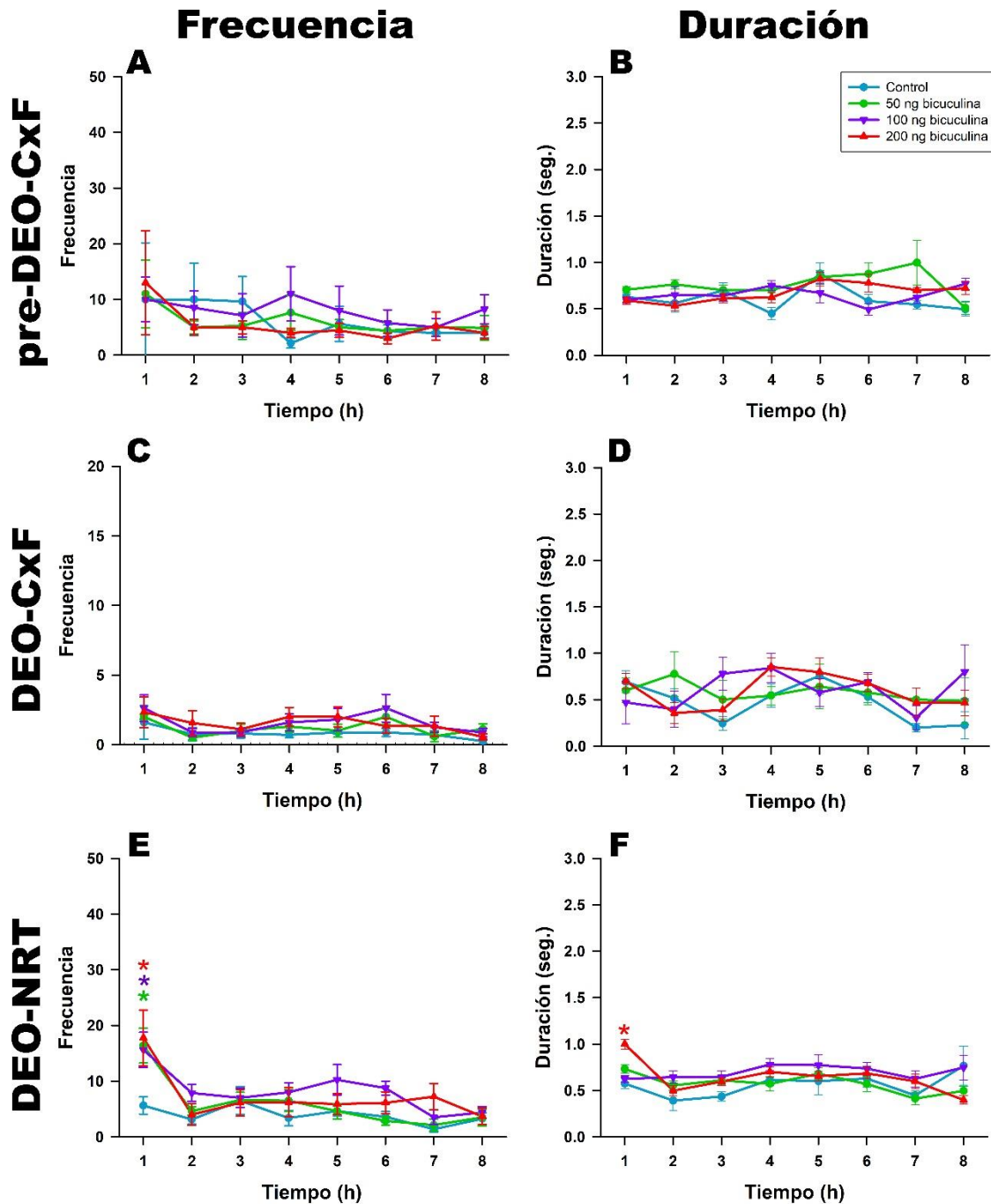
**Figura 51. Coherencia cerebral entre las cortezas frontal (CxF) y occipital (CxO) tras la administración de bicuculina.** La administración de bicuculina incrementa la coherencia cerebral para las frecuencias de 4.3 - 7.42 Hz, 8.2 - 10.94 Hz y de 15.63 - 19.54 Hz durante la primera hora respecto a lo obtenido en el grupo control. \*  $P < 0.05$  respecto al registro control.



**Figura 52. Coherencia cerebral entre la corteza frontal (CxF) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) después de la administración de bicuculina.** La administración de bicuculina incrementa la coherencia cerebral para las frecuencias de 7.81 - 10.55 Hz, y de 16.02 - 19.92 Hz durante la primera hora respecto al grupo de sujetos control. \*  $P < 0.05$  respecto al registro control.



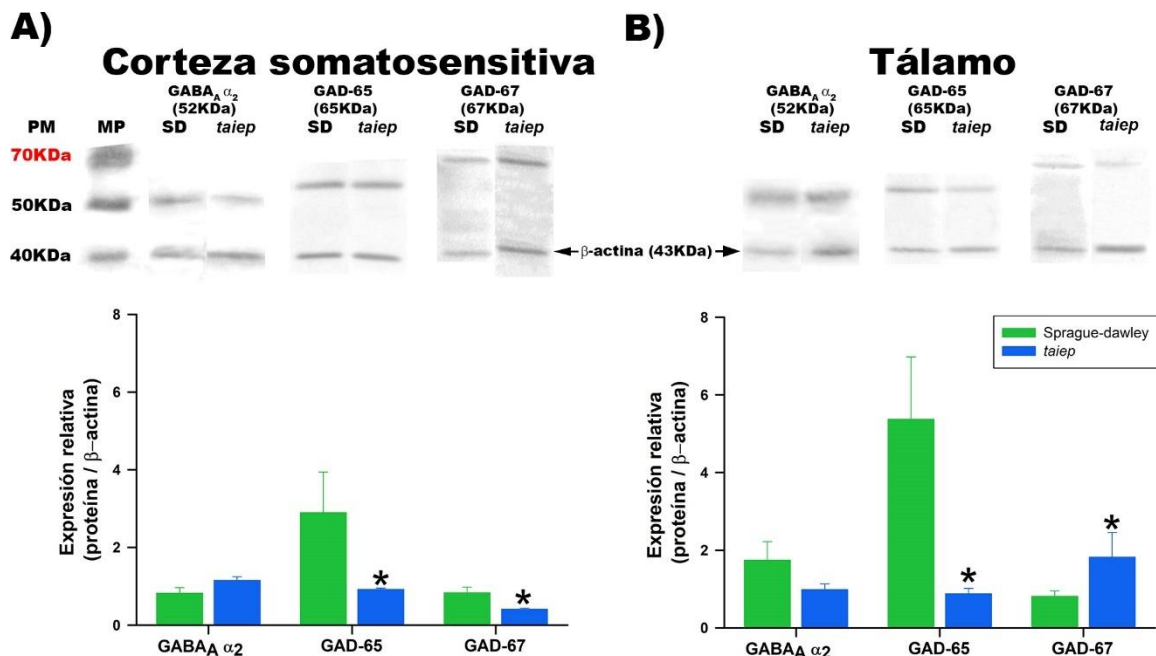
**Figura 53.** Coherencia cerebral entre la corteza occipital (CxO) y el núcleo reticular del tálamo (NRT) tras la administración de bicuculina. La bicuculina administrada en el núcleo reticular del tálamo rostral no modifica la sincronización entre estas dos regiones a lo largo de las 8 h de registro.



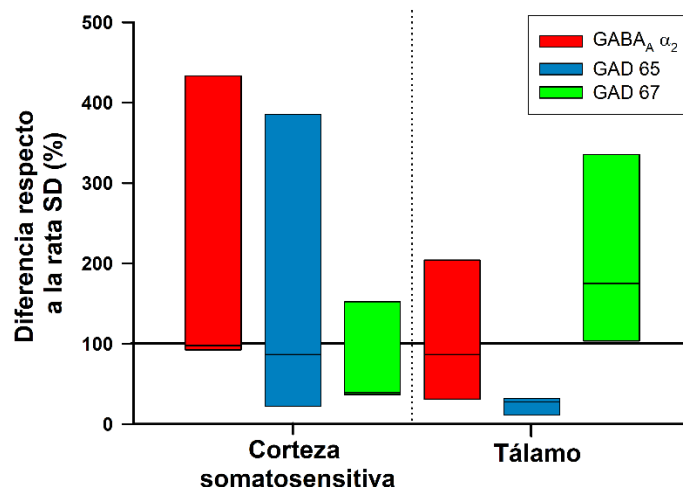
**Figura 54. Efecto de la administración de bicuculina en las descargas espiga-onda.** La administración de bicuculina aumentó significativamente el (E) número y (F) duración de las descargas espiga-onda en el núcleo reticular del tálamo (DEO-NRT). Sin producir cambios significativos en (A) la frecuencia y la (B) duración de las pre-descargas espiga-onda en la corteza frontal (pre-DEO-CxF), ni en (C, D) las descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal (DEO-CxF).

## 9.6 EXPRESIÓN DE LAS ENZIMAS GAD-65 Y 67 Y DEL RECEPTOR GABA<sub>A</sub> EN EL CIRCUITO TÁLAMO-CORTICAL

En la corteza somatosensitiva, la rata *taiep* mostró una disminución significativa de hasta un 68% en la expresión de la enzima GAD-65 ( $0.92 \pm 0.03$ ; Prueba t de Student,  $T_4 = 2.2$  y  $P < 0.05$ ) y hasta un 50 % de la enzima GAD-67 ( $0.4 \pm 0.02$ ; Prueba t de Student,  $T_{(4)} = 2.8$  y  $P < 0.05$ ) respecto a la rata Sprague-Dawley ( $2.8 \pm 1$  para GAD-65 y  $0.8 \pm 0.1$  para GAD-67; véase Figura 55A y 56). Por otro lado, en el tálamo de la rata *taiep* aumento significativamente hasta 2.2 veces la expresión de la enzima GAD-67 ( $1.82 \pm 0.6$ ; Prueba t de Student,  $T_{(4)} = 2.13$  y  $P < 0.05$ ) y un decremento de hasta el 83 % de la enzima GAD-65 ( $0.88 \pm 0.1$ ; Prueba t de Student,  $T_{(4)} = 2.7$  y  $P < 0.05$ ) respecto a la rata Sprague-Dawley ( $5.3 \pm 1$  para GAD-65 y  $0.8 \pm 0.1$  para GAD-67; véase Figura 55B y 56). En la rata *taiep* no se obtuvieron cambios en la expresión del receptor GABA<sub>A</sub> en la corteza somatosensitiva ni en el tálamo con respecto a lo obtenido en las ratas Sprague-Dawley.



**Figura 55. Expresión del receptor GABA<sub>A</sub> y de las enzimas GAD-65 y 67 en ratas *taiep* y Sprague-Dawley.** **A)** En la corteza somatosensitiva, la rata *taiep* (en azul) se obtuvo una disminución en la expresión de las enzimas GAD-65 y 67 respecto a la rata Sprague-Dawley (SD, en verde). **B)** En el tálamo, la rata *taiep* se obtuvo un aumento en la expresión de la enzima GAD-67, y una disminución de la enzima GAD-65 respecto a las ratas SD. En la parte superior de cada grafica se muestran las bandas de Western Blot. PM: peso molecular, MP: marcador de peso molecular. \*  $P < 0.05$  respecto a las ratas SD.



**Figura 56. Perfil de la expresión del receptor GABA<sub>A</sub> y de las enzimas GAD-65 y 67 en la rata *taiep*.** La rata *taiep* tuvo un perfil caracterizado por la disminución de la expresión de la enzima GAD-65 y un concomitante aumento de la enzima GAD-67 en el tálamo respecto a las ratas Sprague-Dawley (SD).

**Tabla 6. Efectos de los fármacos administrados en el núcleo reticular del tálamo rostral sobre las crisis de ausencia de la rata *taiep*.**

Fármacos	Dosis	Frecuencia		Duración		Latencia	Frecuencia del componente principal de las DEO	
		T <sub>máx</sub> (h)	Pc (%)	T <sub>máx</sub> (h)	Pc (%)	Pc (%)		
Bloqueadores de los canales de Ca <sup>2+</sup> tipo T	Etosuximida	25 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	6.25 Hz
		50 µg/µL	SC	SC	1	↓20*	↑340*	6.25 Hz
		100 µg/µL	SC	SC	1	↓30&	↑340*	6.25 Hz
	Mibefradil	1 µg/µL	SC	SC	SC	SC	↑250*	6.25 Hz
		2 µg/µL	SC	SC	5	↓35*	↑250*	6.25 Hz
		4 µg/µL	SC	SC	5	↓35*	↑250*	6.25 Hz
GABAérgicos	Gaboxadol	7.5 µg/µL	1-3	↓100&	1-3	↓100&	↑2800&	4.69 Hz
		15 µg/µL	1-3	↓100&	1-3	↓100&	↑2800&	4.69 Hz
		30 µg/µL	1-4	↓100&	1-4	↓100&	↑4200&	4.69 Hz
	Bicuculina	50 ng/µL	SC	SC	5	↓32*	SC	6.25 Hz
		100 ng/µL	4	↑400*	4-5	↓32&	↓70*	6.25 Hz
		200 ng/µL	4	↑400*	4-5	↓32&	↓70*	7.81 Hz

T<sub>máx</sub>: Hora máxima de aumento o decremento en la frecuencia, duración o latencia a la primera crisis respecto al grupo control. Pc: Porcentaje de cambio de aumento o decremento respecto al grupo control. SC: Sin cambios significativos respecto al grupo control. \*  $P < 0.05$ , &  $P < 0.001$  respecto al grupo control.

Tabla 7. Efectos de los fármacos administrados en el núcleo reticular del tálamo rostral en la coherencia cerebral del circuito tálamo-cortical durante las crisis de ausencia de la rata *taiep*.

Fármacos	Dosis	CxF-CxO		CxF-NRT		CxO-NRT		
		T <sub>máx</sub> (h)	Frec (Hz)	T <sub>máx</sub> (h)	Frec (Hz)	T <sub>máx</sub> (h)	Frec (Hz)	
Bloqueadores de los canales de Ca <sup>+2</sup> tipo T	Etosuximida	25 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	
		50 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	
		100 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	
	Mibefradil	1 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	
		2 µg/µL	3	↑Delta* ↑Theta 1*	SC	SC	SC	SC
		4 µg/µL	3	↑Delta* ↑Theta 1*	SC	SC	SC	SC
GABAérgicos	Gaboxadol	7.5 µg/µL	3	↑Todas*	3	↑Todas*	3	↑Todas*
		15 µg/µL	3	↑Todas*	3	↑Todas*	3	↑Todas*
		30 µg/µL	8	↑casi todas*	8	↑casi todas*	8	↑Delta*
	Bicuculina	50 ng/µL	1	↑Theta 1* ↑Theta 2* ↑Beta 1*	1	↑Theta 2* ↑Beta 1*	SC	SC
		100 ng/µL	1	↑Theta 1* ↑Theta 2* ↑Beta 1*	1	↑Theta 2* ↑Beta 1*	SC	SC
		200 ng/µL	1	↑Theta 1* ↑Theta 2* ↑Beta 1*	1	↑Theta 2* ↑Beta 1*	SC	SC

T<sub>máx</sub>: Hora máxima de aumento o decremento en la coherencia cerebral respecto al grupo control. SC: Sin cambios significativos respecto al grupo control. \*P < 0.05 respecto al grupo control.

**Tabla 8. Efectos de los fármacos administrados en el núcleo reticular del tálamo las descargas espiga-onda en la corteza frontal y el núcleo reticular del tálamo.**

Fármacos	Dosis	pre-DEO CxF		DEO CxF		pre-DEO NRT		
		T <sub>máx</sub> (h)	Pc (%)	T <sub>máx</sub> (h)	Pc (%)	T <sub>máx</sub> (h)	Pc (%)	
Bloqueadores de los canales de Ca <sup>2+</sup> tipo T	Etosuximida	25 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	
		50 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	
		100 µg/µL	2	↓58 (D)*	SC	SC	SC	SC
	Mibefradil	1 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	SC
		2 µg/µL	SC	SC	SC	SC	SC	SC
		4 µg/µL	SC	SC	SC	SC	2	↑2.13 (D)&
GABAérgicos	Gaboxadol	7.5 µg/µL	1-3	↓100 (F,D)&	6	↑220 (D)#	1-3	↓100 (F,D)&
		15 µg/µL	1-3	↓100 (F,D)&	3 8	↓14 (D)# ↑150 (D)#	1-3 5-8	↓100 (F,D)& ↑160 (D)#
		30 µg/µL	1-5	↓100 (F,D)&	2-4	↓14 (D)#	1-4	↓100 (F,D)&
	Bicuculina	50 ng/µL	SC	SC	SC	SC	1	↑300 (F)*
		100 ng/µL	SC	SC	SC	SC	1	↑300 (F)*
		200 ng/µL	SC	SC	SC	SC	1	↑300 (F)*

T<sub>máx</sub>: Hora máxima de aumento o decremento de las pre-descargas en la corteza frontal (pre-DEO CxF), núcleo reticular del tálamo (pre-DEO NRT) o las descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal (DEO CxF). SC: Sin cambios significativos respecto al grupo control, F: cambio en la frecuencia, D: cambio en la duración. \*  $P < 0.05$ , #  $P < 0.01$ , &  $P < 0.001$  respecto al grupo control.

## 10. DISCUSIÓN

---

Los hallazgos en los últimos años indican que las crisis de ausencia son causadas por una disfunción en el circuito tálamo-cortical que se caracteriza por un decremento en las aferencias hacia la corteza somatosensitiva debido a la inhibición mediada a través del receptor GABA<sub>A</sub> en las neuronas tálamo-corticales localizadas en el núcleo ventrobasal del tálamo (Cope y cols., 2009). El aumento de la inhibición por los receptores GABA<sub>A</sub> es causado por la acumulación del neurotransmisor GABA, probablemente debido a una disfunción en su recaptura por los astrocitos, o por un aumento en la expresión de los canales de Ca<sup>+2</sup> tipo T en las neuronas del núcleo reticular talámico (Crunelli y cols., 2012; Pirrtimaki y cols., 2013). Otra opción que existe es una disminución en la inhibición de los receptores GABA<sub>A</sub> en las neuronas piramidales de la corteza somatosensitiva, lo que las hace hiperexcitables (Crunelli y cols., 2012).

El papel de la corteza somatosensitiva como la iniciadora de las descargas espiga-onda es respaldado por los registros electroencefalográficos de las ratas WAG-Rij y GAERS, e incluso estudios en humanos con inicio de las descargas en regiones cortico-frontales, similar a lo que obtuvimos en nuestros registros en la rata *taiep* en el presente trabajo (véase Figura 25 y Anexo 12.6; Panayiotopoulos, 2001; Polack y cols., 2007; Van Luijtelaaar y cols., 2011; Depaulis y Charpier, 2018). Estos hallazgos han llevado a la hipótesis que las crisis de ausencia no son realmente "generalizadas", con compromiso cortical inmediato y global, sino que se inician a partir de redes corticales específicas y luego se propagan al circuito neuronal tálamo-cortical.

Esta actividad previa al inicio de la descarga espiga-onda es muy relevante porque muestra que existe un proceso que disminuye el ritmo de la actividad tálamo-cortical que lleva a un estado de conciencia particular que caracteriza a la crisis de ausencia, esto es que se produce una "detención" en la conducta, la cual se restablecería cuando cese la actividad síncrona espiga-onda.

Por otro lado, el núcleo reticular del tálamo se ha dividido en dos regiones anatómico-funcionales diferentes para la producción de las descargas espiga-onda. La región caudal del núcleo mantiene conexiones directas con neuronas tálamo-corticales con funciones sensitivas, mientras que la región rostral tiene conexiones con circuitos motores y límbicos, recibiendo aferencias tanto de los núcleos basales como de la sustancia nigra pars reticularis; ambas regiones mantienen conexiones con el núcleo ventroposteromedial del tálamo (Aker y cols., 2006). Se ha reportado en las ratas GAERS que el bloqueo de los receptores GABA<sub>A</sub>, por la administración de bicuculina en la región caudal produce un aumento en la duración de las descargas espiga-onda, contrario a lo que sucede en la región rostral, que disminuye la duración de las descargas (Aker y cols., 2006). Nuestros resultados en la rata *taiep* son semejantes a la rata GAERS, ya que obtuvimos también una disminución en la duración de las crisis con la administración de bicuculina en la región rostral del núcleo reticular del tálamo (véase Tabla 6, 7 y 8, Figura 49). Se ha propuesto al núcleo reticular del tálamo como responsable de la duración y terminación de las descargas espiga-onda durante las crisis de ausencia (Depaulis y Charpier, 2017).

Diversos estudios en la rata WAG/Rij usando el análisis de causalidad de Granger han permitido conocer la dinámica de acople de las estructuras del circuito tálamo-cortical durante las descargas espiga-onda en una crisis de ausencia. Tan solo 1.5 segundos antes del inicio de las descargas espiga-onda existe un incremento en el acople bidireccional de los microcircuitos en la corteza somatosensitivas, específicamente en las capas corticales IV, V y VI (Sitnikova y cols., 2008; Lüttjohann y cols., 2014; Sysoeva y cols., 2016). En las ratas GAERS también se ha reportado un incremento en la actividad de las neuronas piramidales de las capas profundas de la corteza somatosensitivas antes del inicio de las descargas espiga-onda (Polack y cols., 2007). Posterior a esta actividad hay un aumento en el acople desde la corteza somatosensitiva hacia el tálamo, con un incremento en el ritmo delta del electroencefalograma previo a la descarga espiga-onda, representando un estado de preparación para el inicio de la descarga misma (véase Anexo 12.2; Sitnikova y cols., 2008; Sitnikova y van Luijtelaaar, 2009).

Durante la descarga espiga-onda existe un aumento del acople direccional de la corteza cerebral al núcleo reticular del tálamo y de este núcleo hacia los núcleos talámicos (Sitnikova y cols., 2008; Lüttjohann y cols., 2014). Las aferencias GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo disminuyen la probabilidad de disparo de las neuronas tálamo-corticales (Cope y cols., 2009). Un segundo previo al cese de la descarga espiga-onda, la región caudal del núcleo reticular del tálamo aumenta su acople con la región rostral, mientras disminuye el acople direccional de la corteza somatosensitiva y el núcleo reticular del tálamo (Lüttjohann y cols., 2014). Para finalmente, dar termino a la descarga espiga-onda, quedando solo un aumento en el acople entre la corteza somatosensitiva y los núcleos talámicos posteriores, que aún se desconoce su rol (véase Anexo 12.2; Lüttjohann y cols., 2014).

La patología desmielinizante de la rata *taiep* otorga múltiples panoramas para desencadenar las descargas espiga-onda. Desde el desacople del circuito tálamo-cortical visto en estudios de potenciales provocados visuales, auditivos o somatosensitivos al estimular el nervio ciático o peroneo donde se muestra un retraso significativo en sus componentes corticales (Benítez y cols., 1997; Roncagliolo y cols., 2000; Eguibar y cols., 2008; Eguibar y cols., 2022 sometido a consideración de la editorial). Incluso al estimular la corteza cerebral motora en la rata *taiep* la onda D (directa) y la onda I (indirecta) se fusionan debido al retraso sináptico de la vía cortico-espinal (Eguibar y cols., 2022, sometido a consideración de la editorial). De la misma manera en los potenciales provocados auditivos, la rata *taiep* presenta umbrales auditivos normales, pero con un retraso en la latencia de las ondas III y IV, por lo que la mutación en la tubulina solo afecta las vías centrales y corticales de la rata (véase Anexo 12.3; Lopez-Juarez y cols., 2020; Eguibar y cols., 2022, sometido a consideración de la editorial). Es muy relevante que las alteraciones en los potenciales provocados auditivos sean similares entre las ratas *taiep* tanto infantiles (Roncagliolo y cols., 2000), como adultas jóvenes (Lopez-Juarez y cols., 2020) con respecto a lo encontrado en un paciente con H-ABC de Chiapas, México (véase Anexa 12.3). De hecho, los potenciales somatosensitivos del nervio femorocutaneo tienen una homología entre lo

reportado en la paciente y en la rata *taiep* (Salceda Ruanova, 1997; Eguibar y cols., 2022, sometido a consideración de la editorial).

En este mismo contexto, el proceso desmielinizante de la rata *taiep* se acompaña de una astrogliosis reactiva que inicia en las distintas regiones del cerebro inicialmente mielinizadas, como es el tallo encefálico desde los 15 días de vida, extendiéndose a medida que progresa el defecto de mielina a la corteza cerebral y cerebelo al mes de edad hasta el diencéfalo a los seis meses de edad (Leon Chavez y cols., 2001). Se ha observado en ratas GAERS la acumulación del neurotransmisor GABA en las sinapsis de las neuronas del núcleo reticular talámico y las neuronas tálamo-corticales debido a una disfunción astrocítica (Pirttimaki y cols., 2013). La astrogliosis puede relacionarse con la aparición de la crisis de ausencia en la rata *taiep*, al alterar la transmisión sináptica debido a la acumulación de neurotransmisores, por cambios en los mecanismos de recaptura.

### **10.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS CRISIS DE AUSENCIA POR SEXO Y EDAD**

La mayoría de los datos disponibles sobre las crisis de ausencia en modelos genéticos provienen de dos líneas endogámicas bien conocidas: las ratas WAG/Rij y las ratas GAERS (Marescaux y Vergnes, 1995; Luijtelaar y Zobeiri, 2014). Sus características permiten realizar diferentes estudios con una variedad de enfoques. Otros estudios sobre la neurobiología de la epilepsia de ausencia provinieron de los ratones (Noebels, 1979), la mayoría de ellos con síndromes neurológicos por la mutación en los genes para los canales de sodio o potasio (Eguibar y Cortés, 2010b). Por otro lado, agentes farmacológicos capaces de inducir crisis de ausencia agudas, como una dosis baja de pentilenetetrazol, penicilina o gamma-hidroxibutirato. Para modelos farmacológicos crónicos, la administración prenatal de metilazoximetanol (MAM), que induce displasias corticales e hipocampales (Baraban y Schwartzkroin, 1995; Cortez y cols., 2016), otro agente comúnmente utilizado es un inhibidor de la síntesis de colesterol, AY-

9944, que se administra postnatalmente e induce crisis de ausencia atípicas más adelante en la vida (Cortez y cols., 2002).

Aun con una variedad de modelos experimentales para el estudio de las crisis de ausencia, existen pocos modelos en los que se asocie este tipo de epilepsia con otras patologías del sistema nervioso central. Los resultados actuales en la rata *taiep* demostraron que presenta una tubulinopatía caracterizada por una hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva del sistema nervioso central que se acompaña de aumento dependiente de la edad en el número y la duración de las crisis de ausencia. Los presentes resultados muestran que las ratas *taiep* tienen descargas espiga-onda asociadas a una interrupción de su conducta sin signos motores visibles, los cuales son las principales características de este tipo de epilepsia generalizada (Lunn y cols., 1997; Eguibar y cols., 2014; Cortez y cols., 2016).

Se han reportado cambios en la mielina en las ratas WAG/Rij y las ratas GAERS, como la reducción en la anisotropía fraccional como se estableció con imágenes de tensión de difusión en las fibras mielinizadas del cuerpo calloso que interconectan la corteza somatosensitiva facial entre ambos hemisferios cerebrales, probablemente debido a una disminución en la densidad de las fibras o la cantidad de mielina en esta vía (Chahboune y cols., 2009). Adicionalmente, se ha documentado que en pacientes pediátricos con epilepsia de ausencia existen cambios en la porción de la rodilla del cuerpo calloso con distribución asimétrica en los diferentes tractos de fibras (Liang y cols., 2016). Se ha demostrado en la rata con la leucodistrofia de Canavan, la rata tremor, que las crisis de ausencia aumentan ligeramente desde 13 hasta las 15 semanas de vida (Serikawa y cols., 1987, 1991), y su esperanza de vida es de tan solo 20 semanas, siendo más corta que la rata *taiep* con una esperanza de vida de 18 meses (Serikawa y cols., 1987). En humanos se ha reportado el caso de una niña de 6 años que presentó una leucodistrofia asociada a crisis de ausencia (Dweikat y cols., 2014). Por lo tanto, está claro que la pérdida de mielina puede estar asociada con una mayor expresión de las crisis de ausencia.

Es bastante relevante que las crisis de ausencia incrementen con la edad de los sujetos, lo cual se comparte con los modelos en rata WAG/Rij y GAERS, y que además las ratas *taiep* tienen un dimorfismo sexual claro y único que no se comparte con los otros modelos. Las ratas *taiep* macho se ven más afectadas en comparación con las ratas hembra durante el primer año de vida. En los humanos, la epilepsia de ausencia ocurre con mayor frecuencia entre los 2 y los 15 años de edad (Kuhlo, 1970; van Luijtelaar y cols., 2015), y es más prevalente en niñas que niños; mejorando hasta en dos tercios de los casos después de la pubertad, lo que apoya que probablemente existe algún papel en la maduración de los circuitos cerebrales mediada por los esteroides gonadales para la desaparición de este tipo de epilepsia (Holmes, 1988). En los modelos genéticos en rata no desaparecen las crisis de ausencia con la edad, muy probablemente se deba a que en los humanos existen procesos de maduración neuronal que en las ratas no se encuentran presentes.

En las ratas WAG/Rij el número de crisis de ausencia tienen una distribución circadiana con una acrofase durante la fase oscura (van Luijtelaar y Coenen, 1988). Adicionalmente, se ha descrito en este modelo que existe mayor probabilidad que se presenten crisis de ausencia en los periodos de transición vigilia ↔ sueño de ondas lentas (Smyk y cols., 2019; Smyk y van Luijtelaar, 2020), esto probablemente debido a que el circuito tálamo-cortical es responsable del ritmo cortical, y durante la transición vigilia ↔ sueño de ondas lentas, el circuito pasa por un ritmo similar de las descargas espiga-onda de las crisis de ausencia (Halász y cols., 2002). Las ratas *taiep* de 9 y 12 meses de edad mostraron distribución circadiana del número y en la duración media de las crisis de ausencia, estando ambas acrofases cerca de la mitad de la fase de luz, periodo caracterizado por un mayor número de episodios de sueño comparado con la fase de oscuridad.

Es de destacar que el número y la duración de las crisis de ausencia aumentaron con la edad, pero la frecuencia en el espectro de potencia de las descargas espiga-onda se mantuvo estable alrededor de  $6.30 \pm 0.05$  Hz, lo que respalda que

las vías dentro de la red cortico-tálamo-cortical no son afectadas por el proceso de desmielinización progresiva, y que el circuito tálamo-cortical es estable.

La frecuencia de las descargas espiga-onda en los modelos genéticos con crisis de ausencia difiere a lo reportado en los seres humanos con este tipo de epilepsia, siendo más rápidos en los roedores, como en la rata WAG/Rij y GAERS con un rango de 7 a 11 Hz (Vergnes y cols., 1982; Coenen y Van Luijtelaar, 2003), mientras que en los seres humanos con descargas espiga-onda de tan solo 3 Hz (Crunelli y Leresche, 2002). Se ha propuesto que la diferencia en la frecuencia se debe a la morfología y la distancia del circuito tálamo-cortical, siendo de menor en los roedores (Akman y cols., 2010). En nuestros registros controles, las descargas espiga-onda de la rata *taiep* tienen una frecuencia de 6.25 Hz, muy semejante a las frecuencias reportadas para la rata tremor con la leucodistrofia de Canavan (Serikawa y cols., 1987), siendo las descargas espiga-onda más lentas que las de los otros modelos de crisis de ausencia.

Morfológicamente las descargas espiga-onda se les ha identificado una primera espiga positiva (1S) que sugiere potenciales locales de la corteza cerebral, seguido de una segunda espiga positiva (2S) generada por potenciales que provienen de la corteza al tálamo, ambas espigas incrementan en amplitud en registros frontales; y una onda (W) producto de la reverberación tálamo-cortical (véase Anexo 12.7; Weir, 1965; Sitnikova y Van Luijtelaar, 2007; Akman y cols., 2010).

En la rata *taiep* se puede apreciar incremento en la duración de la onda (W) que incluso enmascara la primera espiga positiva (1S) de la siguiente descarga espiga-onda, probablemente por la patología desmielinizante que enlentece la transmisión de los potenciales de acción dentro del circuito tálamo-cortical (véase Anexo 12.7).

Lo anterior sustenta que el circuito tálamo-cortical de la rata *taiep* se encuentra desmielinizado; sin embargo, este circuito no es afectado por el patrón progresivo desmielinizante de la leucodistrofia que presenta la rata.

### **10.2 EFECTO DE LA ORQUIECTOMÍA EN LAS CRISIS DE AUSENCIA DE LA RATA *TAIEP***

Los estudios sobre la relación entre las hormonas esteroides y la epilepsia están relacionados con el papel de los estrógenos o la progesterona (Scharfman y MacLusky, 2006; Velíšková, 2006), particularmente debido a la relación del ciclo estral o menstrual y la susceptibilidad a las crisis (Scharfman y MacLusky, 2006). Los hallazgos de nuestro estudio son la primera demostración contundente de un efecto diferencial de los andrógenos testiculares sobre la frecuencia de las crisis de ausencia en un modelo de rata con leucodistrofia (Cortes y cols., 2022).

Primero, las ratas *taiep* adultas macho son más propensas a tener una mayor frecuencia de crisis de ausencia en los primeros tres meses de vida que las ratas *taiep* hembra (Cortes y cols., enviado a publicación en *Epilepsia*). Adicionalmente, con nuestros resultados demostramos que los andrógenos podrían inducir cambios permanentes en el sustrato neural que inician las descargas de espiga-onda (Cortes y cols., 2022).

Generalmente, los efectos organizacionales de los andrógenos están relacionados con la exhibición de la conducta sexual masculina, el llamado proceso de masculinización relacionado con la exhibición del patrón característico de la conducta sexual masculina caracterizado por montas, intromisiones y eyaculaciones (McCarthy y cols., 2002; Eguibar y cols., 2016), y un proceso concomitante de desfeminización, lo que representa una disminución en la respuesta de lordosis femenina después de la exposición a la acción secuencial de los estrógenos y la progesterona (Nugent y cols., 2015). Sin embargo, se sabe poco sobre otros comportamientos no sexuales y faltan estudios relacionados con rasgos patológicos (Herzog y Fowler, 2005; van Luijtelaar y cols., 2015). Por lo tanto, este estudio es el primero en correlacionar la susceptibilidad de las crisis de ausencia y la presencia de andrógenos testiculares en el período neonatal, cuando estas hormonas esteroides pueden cambiar permanentemente los sustratos neurales en el llamado "período organizacional" (McEwen, 1992).

Con respecto a las crisis de ausencia en las ratas WAG/Rij, el número de descargas espiga-onda aumentó durante la fase de proestro (Van Luijtelaar y

cols., 2001) y disminuyó durante la fase de diestro (Van Luijtelaar y cols., 2001). La progesterona modula el receptor GABA<sub>A</sub> (Majewska y cols., 1985; Segovia y cols., 1999). Sin embargo, la administración sistémica de progesterona aumenta el número de crisis de ausencia en ratas WAG/Rij (Van Luijtelaar y cols., 2001). Es importante destacar que el bloqueador del receptor de progesterona nuclear específico RU-38486 no bloquea los efectos de este esteroide en las crisis de ausencia, lo que respalda que esta hormona actúa a través de los receptores de la membrana celular (Van Luijtelaar y cols., 2001). Durante el embarazo, la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia disminuyeron desde el día 3 hasta el 18, cuando la progesterona alcanza sus niveles máximos, lo que respalda el papel de esta hormona esteroide en la regulación de las descargas espiga-onda (Tolmacheva y cols., 2004).

Durante un estudio que evaluó los efectos de la cocaína en las descargas espiga-onda, van Luijtelaar y sus colaboradores (Van Luijtelaar y cols., 2001) demostraron que la orquiectomía aumentaba el número de crisis de ausencia en las ratas WAG/Rij macho. Otro estudio propuso que la testosterona pudiera tener un efecto antiepiléptico a través del androstanodiol, uno de sus metabolitos (van Luijtelaar y cols., 2015). Sin embargo, no se realizaron más estudios para caracterizar el papel de los andrógenos en la susceptibilidad de las crisis de ausencia en este u otros modelos animales de este tipo de epilepsia generalizada.

Nuestros resultados mostraron por primera vez que los andrógenos testiculares tienen efecto dual sobre el número de las crisis de ausencia, aumentando la incidencia cuando se realiza la orquiectomía a edad adulta, mientras que la orquiectomía en neonatos las reduce significativamente. Estos resultados implican que los andrógenos, principalmente la testosterona, pueden inducir cambios en la organización del circuito tálamo-cortical y son capaces de activar los circuitos cerebrales relacionados con este tipo de epilepsia, es decir, en la corteza cerebral, para iniciar las crisis (Van Luijtelaar y cols., 1996) y el circuito tálamo-cortical para sostener las descargas espiga-onda.

Los informes clínicos normalmente no analizan el estado hormonal y la susceptibilidad a las crisis en pacientes masculinos (Cortés y Fierro-Rojas, 2018). Por tanto, este estudio es relevante en casos de comorbilidad en los que los cambios hormonales se correlacionan con este tipo de epilepsia u otros tipos de epilepsias como sucede en la pubertad. Se necesitan más experimentos para discernir el papel de los andrógenos en este tipo de epilepsia generalizada.

### **10.3 EFECTO DEL BLOQUEO DE LOS CANALES DE $Ca^{+2}$ TIPO T EN EL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO EN LA RATA *taiep***

Los potenciales en ráfaga mediados por canales de  $Ca^{+2}$  tipo T de bajo umbral en el núcleo reticular del tálamo así como en las neuronas tálamo-corticales, se han correlacionado con la generación de las descargas espiga-onda de las crisis de ausencia (Tringham y cols., 2012; Fogerson y Huguenard, 2016). Las descargas corticales que llegan al núcleo reticular del tálamo causan potenciales postsinápticos excitatorios (EPSP, de sus siglas en inglés) que aunado con las corrientes entrantes de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T generan una ráfaga de potenciales en meseta en el núcleo reticular del tálamo. Las descargas del núcleo reticular del tálamo y de la corteza cerebral provocan en las neuronas tálamo-corticales del complejo ventrobasal del tálamo una serie de potenciales postsinápticos inhibitorios (IPSP, de sus siglas en inglés) y excitatorios que raramente producen potenciales de acción (véase Figura 12; Crunelli y Leresche, 2002; Cheong y Shin, 2013, 2014).

Existe mayor expresión de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T en roedores mutantes con fenotipos de epilepsia del tipo de las crisis de ausencia, lo que respalda el papel de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T en la génesis de este tipo de epilepsia (Fletcher y cols., 1996; Burgess y cols., 1997; Letts y cols., 1998; Sarkisian, 2001). Así se ha mostrado que la sobreexpresión funcional de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T en las neuronas reticulares talámicas en la rata GAERS (Talley y cols., 2000). Adicionalmente, la administración intracerebral de cadmio, un ion que bloquea las corrientes de  $Ca^{+2}$  tipo T, en el núcleo reticular talámico de la rata GAERS

disminuye significativamente la duración de las descargas espiga-onda (Avanzini y cols., 1992; Avoli, 2012).

La etosuximida, es el fármaco de primera línea para el tratamiento de las crisis de ausencia típica (McNamara, 2007), se ha administrado por microinfusión dosis desde 200 nM (28.23 µg) en el núcleo reticular del tálamo en las ratas GAERS, produciendo disminución de un 70 % en la duración de las descargas espiga-onda durante la primera hora después de la administración y con aumento en la latencia para presentarse la primera crisis (Richards y cols., 2003). En este mismo contexto, la etosuximida administrada de forma sistémica en pacientes con epilepsia y en las ratas GAERS y WAG/Rij reduce el número y la duración de las crisis de ausencia (Richards y cols., 2003; McNamara, 2007; Blumenfeld y cols., 2008). Estos mismos efectos se obtuvieron en la rata *taiep* donde la administración sistémica de la etosuximida redujo un 90 % el número de crisis de ausencia y hasta un 40 % en su duración en la primera hora después de su administración (Callejas Rojas, 2009; Cortés y cols., 2022, manuscrito en preparación).

En nuestros resultados obtuvimos una reducción en la duración de las crisis de ausencia incrementando la latencia para que se presente la primera crisis con la administración de etosuximida por microinfusión en el núcleo reticular del tálamo rostral (véase Figura 31, Tabla 6). Estos mismos efectos se replicaron con la administración del bloqueador específico de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T, el mibefradil (véase Figura 37, Tabla 6). Por lo que establecería que las descargas espiga-onda en la rata *taiep* son debidas a potenciales en ráfaga mediados por corrientes de  $Ca^{+2}$  tipo T en el núcleo reticular del tálamo. Adicionalmente, parte del efecto antiepiléptico de la etosuximida es a través de bloquear los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T en este núcleo, al igual como se ha reportado en otros modelos animales y en la enfermedad humana (Richards y cols., 2003; McNamara, 2007; Blumenfeld y cols., 2008). Esto es relevante porque aún de los orígenes diversos de los modelos animales disponibles de este tipo de epilepsia generalizada, se

conservan mecanismos fisiopatológicos similares para la generación de las descargas espiga-onda.

#### **10.4 EFECTO GABAÉRGICO EN EL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO EN LA RATA *taiep***

El receptor GABA<sub>A</sub> es clave en la fisiopatología de las crisis de ausencia en la rata *taiep* como lo mostramos en nuestros resultados. La inhibición ejercida por el núcleo reticular del tálamo en las neuronas tálamo-corticales del complejo ventrobasal del tálamo causan disminución de las aferencias a la corteza y con ello la típica detención de la conducta que se presenta en la crisis de ausencia (Crunelli y cols., 2012).

En anteriores trabajos hemos reportado la exacerbación de las crisis de ausencia con la administración sistémica de gaboxadol y un decremento con la bicuculina (Ibarra-Hernández, 2018). Probablemente los efectos de los fármacos se sumaron al impacto de las descargas inhibitorias del núcleo reticular del tálamo sobre las neuronas tálamo-corticales y así mediaron la expresión de las descargas espiga-onda (Crunelli y Leresche, 2002; Crunelli y cols., 2012). En esta ocasión, la administración local de gaboxadol en el núcleo reticular del tálamo rostral suprimió las crisis de ausencia hasta por 4 horas en la rata *taiep*, tal administración emuló el efecto inhibitorio de la región caudal sobre la región rostral del núcleo reticular del tálamo que se observa un segundo previo a la finalización de las crisis de ausencia (Lüttjohann y cols., 2014). Después de la supresión por el gaboxadol, hubo una disminución en la frecuencia de las descargas espiga-onda pasando desde 6.25 Hz hasta 4.69 Hz de frecuencia en el componente principal. El efecto contrario fue obtenido con la administración de bicuculina, la cual disminuyó la latencia para que aparezca la primera crisis de ausencia y aumentó la frecuencia de las descargas espiga-onda hasta alcanzar 7.81 Hz. La función de la región rostral del núcleo reticular del tálamo parece fundamental para determinar la duración de la descarga espiga-onda, así como la velocidad en la que reverbera el circuito tálamo-cortical.

Durante el efecto del gaboxadol se incrementó el ritmo delta en el electroencefalograma de base, tal efecto es producto de la disminución de la frecuencia en que reverbera el circuito tálamo-cortical, ya que las funciones de este circuito es el mantener el ritmo cortical (Crunelli y cols., 2018). Lo anterior lo podemos apreciar cuando aparecen las primeras descargas espiga-onda con frecuencias más lentas respecto de lo obtenido en los registros controles con la administración del vehículo. Adicionalmente, se obtuvo disminución en las descargas en el núcleo reticular del tálamo rostral, que son reflejo de la inhibición inducida por el gaboxadol, el efecto contrario lo obtuvimos con la administración de la bicuculina que incrementó el número y la duración de las descargas en el núcleo reticular del tálamo durante la primera hora después de su administración.

Adicionalmente, posterior al efecto inhibitorio del gaboxadol, hubo un incremento en todas las frecuencias en la coherencia cerebral entre la corteza frontal y occipital, y estas áreas con el núcleo reticular del tálamo, lo que indica un incremento en la sincronización en el circuito tálamo-cortical, efecto de sincronización temporal o “*time-lock*” (Damasio, 1989). A la vez obtuvimos una tendencia a incrementarse el número y la duración de las descargas espiga-onda, acompañándose de un incremento en la duración las descargas corticales aisladas también en las obtenidas en el núcleo reticular del tálamo, como un efecto de rebote posiblemente resultado de un síndrome de privación al GABA tras metabolizarse el gaboxadol (Brailowsky y cols., 1990). Lo que podemos confirmar con la administración de bicuculina que incrementó la coherencia entre la corteza frontal con la occipital, y entre la corteza frontal con el núcleo reticular del tálamo para la mayoría de las frecuencias durante la primera hora después de su administración. Estos hallazgos muestran un rol fundamental del GABA a través de sus receptores tipo A que cambian al circuito enfatizando a una descarga en el rango de frecuencias theta.

Nuestros resultados muestran que el núcleo reticular del tálamo modula la duración y mantenimiento de las descargas espiga-onda en la rata *taiep*. La inhibición sobre la región rostral del núcleo reticular del tálamo induce la supresión

temporal de las descargas espiga-onda, mientras que el aumento de la actividad de esta región facilita la aparición de las descargas espiga-onda y la sincronización del circuito tálamo-cortical. Es necesario analizar el rol del GABA en el núcleo reticular del tálamo en su región caudal en futuros experimentos.

### **10.5 EXPRESIÓN DE LA ENZIMA GAD-65 Y 67 Y DEL RECEPTOR GABA<sub>A</sub> EN EL CIRCUITO TÁLAMO-CORTICAL**

En los otros modelos murinos de crisis de ausencia se ha reportado perfiles que promueven el incremento del neurotransmisor GABA a nivel talámico o su decremento a nivel de la corteza somatosensitiva. En el ratón letárgico se ha obtenido un aumento de hasta un 37% en la expresión de la enzima GAD-67 en homogenizados del núcleo reticular del tálamo y empleando inmunohistoquímica (véase Figura 11A; Lin y cols., 1999). En otro ratón con crisis de ausencia, el Stargazer, se ha mostrado un incremento en la expresión de las subunidades para el receptor GABA<sub>A</sub> en el núcleo ventroposterior del tálamo, que al igual que los ratones controles se observa una predominante distribución de la enzima GAD-67 en el núcleo reticular del tálamo (véase Figura 11B; Seo y Leitch, 2014).

En la rata GAERS se ha descrito que es la corteza somatosensitiva la que muestra una disfunción de los receptores GABA<sub>A</sub> que son incapaces de unirse a las benzodiazepinas, sin cambios en la densidad del receptor, ni en la enzima GAD (Spreafico y cols., 1993). Por otro lado, en las ratas WAG/Rij existe una disminución del receptor GABA<sub>A</sub> fásico en la región somatosensitiva de la corteza cerebral debido a una mutación en la subunidad  $\gamma_2$  del receptor, similar a lo reportado en leucocitos de muestras sanguíneas de pacientes con crisis de ausencia (Wallace y cols., 2001; Crunelli y cols., 2012). En pacientes con el síndrome con epilepsia de ausencia típica y crisis febriles se ha reportado la mutación de la subunidad  $\gamma_2$  del receptor GABA<sub>A</sub>, causando una disfunción de la inhibición GABAérgica (Macdonald y cols., 2004, 2010). Con nuestros resultados hemos mostrado que la rata *taiep* tiene una disminución en la expresión de las enzimas GAD-65 y 67 en la corteza somatosensitiva, mientras que en el tálamo

hay incremento de la enzima GAD-67 y decremento de la expresión de la GAD-65, sin cambios significativos en la expresión de los receptores GABA<sub>A</sub> respecto a lo obtenido en las ratas Sprague-Dawley (véase Figura 55 y 56).

El decremento en la expresión de las enzimas GAD-65 y 67 en la corteza somatosensitiva promueven una disminución en la síntesis del neurotransmisor GABA y un consecuente aumento de la probabilidad de disparo de las neuronas piramidales, lo que puede crear un foco hiperexcitable (Crunelli y cols., 2012). Lo antes expuesto puede explicar el aumento de la enzima GAD-67 a nivel talámico, debido a que el foco hiperexcitable en la corteza somatosensitiva aumenta las entradas excitatorias al núcleo reticular del tálamo, el principal núcleo GABAérgico del tálamo (Fogerson y Huguenard, 2016; Crunelli y cols., 2018); y un aumento en la síntesis de GABA e inhibir a las neuronas tálamo-corticales. De tal manera que se facilita y promueve las crisis de ausencia en la rata *taiep* por una descarga sincrona del circuito tálamo-cortical.

El adecuado funcionamiento del sistema nervioso central (SNC) depende de la complejidad de las redes neuronales formadas durante el desarrollo, cuando las neuronas adquieren sus formas y funciones. Por esta razón, los mecanismos neurogénicos dependen de la estrecha coordinación y dinámica del citoesqueleto (Monteiro y cols., 2011).

Es claro que la epilepsia es algo característico de los individuos con leucodistrofias, reportándose una prevalencia que va desde el 30% hasta el 66% de los casos publicados en la literatura (véase Anexo 12.4; Yalçinkaya y cols., 2003; Jovic-Jakubi y cols., 2007; Bonkowsky y cols., 2010, 2020; Itoh y cols., 2019; Kulhánek y cols., 2019; Zhang y cols., 2020; Amin y cols., 2022), de los cuales el 18% de los casos de H-ABC se acompañan de crisis epilépticas (Ferreira y cols., 2014). En la mayoría de los casos de epilepsia en individuos con leucodistrofias se reportan crisis focales o crisis focales que evolucionan a crisis generalizadas (Yalçinkaya y cols., 2003; Zhang y cols., 2020), esto sugiere que la afectación en la sustancia blanca por la leucodistrofia, afecta a las neuronas

adyacentes en la corteza cerebral, lo que lleva a la formación de focos epilépticos (Zhang y cols., 2020). La presencia de epilepsia en individuos con leucodistrofias se relaciona con un inicio más temprano de la afección de la mielina, comparado con individuos con leucodistrofias sin epilepsia (Zhang y cols., 2020). Por lo que los defectos en la mielinización son críticos para la aparición de alteraciones en el desarrollo de la corteza cerebral; y, por lo tanto, de la génesis de los síndromes epilépticos (Monteiro y cols., 2011). Aun así, la presencia de epilepsia en individuos con leucodistrofia no incrementa el riesgo de muerte (Bonkowsky y cols., 2010).

El ajuste fino de la proliferación y la neurogénesis, la migración y diferenciación neuronal y la conectividad subyacen al correcto desarrollo de la corteza cerebral (Jaglin y Chelly, 2009). Las mutaciones en genes implicados en estos procesos son responsables de trastornos del neurodesarrollo (Parrini y cols., 2016). En los últimos años, la importancia de los componentes del citoesqueleto en los procesos celulares cruciales para el desarrollo cortical ha surgido a partir del avance de los nuevos métodos de diagnóstico (Jaglin y Chelly, 2009). El reciente descubrimiento de pacientes con lisencefalia y polimicrogiria asimétrica bilateral portadores de mutaciones en los genes codificadores de tubulina alfa y beta respalda aún más el rol del citoesqueleto en el desarrollo de la corteza cerebral, además también plantea preguntas interesantes sobre los roles específicos que desempeñan ciertos isotipos de tubulina durante el desarrollo de la corteza y la génesis de focos epilépticos, ya que es una característica la presencia de crisis epilépticas en los trastornos por tubulinopatías (véase Anexo 12.5; Poirier y cols., 2010; Romaniello y cols., 2012; Cushion y cols., 2013; Amrom y cols., 2014; Bahi-Buisson y cols., 2014).

Nuestros hallazgos son relevantes ya que, aunado a los estudios genéticos y de imagenología, junto con los de índole neurofisiológico, como los estudios de electroencefalografía y del sueño, caracterizan la presentación de las crisis de ausencia en este modelo de desmielinización. Dado que, la rata *taiep* es el único

modelo de la leucodistrofia humana con hipomielinización y atrofia de núcleos basales y cerebelo (H-ABC), nuestros hallazgos experimentales pueden ser trasladados y analizados en los pacientes humanos. La homología en los potenciales provocados auditivos entre el único paciente reportado en México de esta enfermedad congénita de la mielina y la rata *taiep* (Lopez-Juárez y cols., 2021); así como de los potenciales provocados somatosensitivos desde la extremidad inferior (Eguibar y cols., sometido a consideración editorial), apuntan que es necesario ampliar las pruebas neurofisiológicas clínicas en los pacientes afectados de esta y otras leucodistrofias.

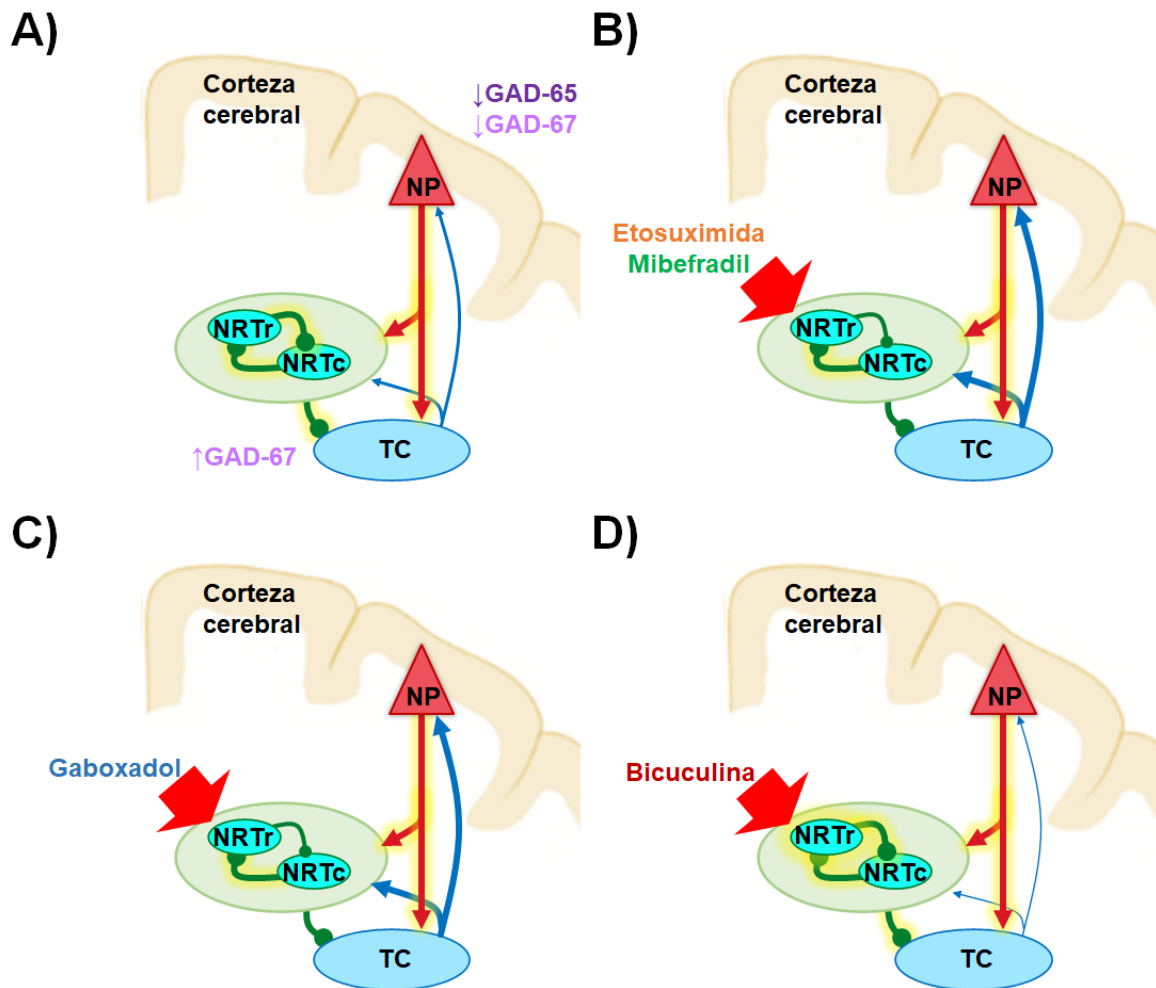
Por último, nuestros resultados son la base para la búsqueda de nuevos enfoques terapéuticos en el tratamiento de las crisis de ausencia, en particular de aquellas que muestren farmacoresistencia, puede ser abordado por médicos clínicos y de esta forma completar el círculo de la investigación biomédico-clínica.

## 11. CONCLUSIONES

---

1. La rata *taiep* tiene una fuerte validez predictiva (farmacológica), aparente (semiológica) y de constructo (consistencia teórica) para la epilepsia de ausencia típica y para la leucodistrofia humana denominada hipomielinización y atrofia de núcleos basales y cerebelo (H-ABC).
2. Las crisis de ausencia incrementan 4 veces en número y hasta 3 veces en duración con la edad, presentándose desde los 3 meses de edad en las ratas macho y hasta los 6 meses de edad en las ratas hembra.
3. Las crisis de ausencia presentan un ritmo circadiano a partir de los 9 meses de edad, con la acrofase en la fase de luz del ciclo circadiano.
4. Las descargas espiga-onda de la rata *taiep* tiene una frecuencia de 6.3 Hz sin cambiar con la edad, siendo más lentas que en los otros modelos de crisis de ausencia, debido a su patología desmielinizante.
5. El circuito tálamo-cortical muy probablemente se encuentra afectado por la desmielinización inicial pero no por la pérdida progresiva de mielina.

6. Los efectos en el neurodesarrollo de los andrógenos (efectos organizacionales) modifica la incidencia de las crisis de ausencia en las ratas *taiep* macho.
7. La rata *taiep* presenta inicio anticipado de las descargas espiga-onda en el registro frontal, que junto con la disminución en la expresión de las enzimas GAD-65 y 67 en la corteza somatosensitiva, sugieren la presencia de un foco epiléptico cortical.
8. La rata *taiep* tiene aumento en la expresión de la enzima GAD-67 en el tálamo, lo que probablemente inhibe a las neuronas tálamo-corticales.
9. El efecto antiepiléptico de la etosuximida se debe en parte al bloqueo de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T en el núcleo reticular del tálamo. Lo que hemos confirmado al remedar sus efectos con la administración del bloqueador específico de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T: el mibefradil.
10. La disminución de la actividad oscilatoria debido a la activación de los canales de  $Ca^{+2}$  tipo T en la región rostral del núcleo reticular del tálamo induce disminución de la duración de las descargas espiga-onda y prolongan el tiempo para su aparición.
11. La inhibición de la región rostral del núcleo reticular del tálamo por acción del gaboxadol, suprime las crisis de ausencia hasta por 4 horas, y además disminuye la frecuencia de las descargas espiga-onda hasta 4.69 Hz. Posteriormente aparece efecto de sincronización temporal.
12. La administración de bicuculina en la región rostral del núcleo reticular del tálamo aumenta el número de crisis de ausencia, disminuyendo la duración y la latencia para la primera crisis. Que junto con el aumento en la frecuencia de las descargas espiga-onda y la coherencia cerebral, indican que se produce incremento en la velocidad de reverberación del circuito tálamo-cortical.
13. El núcleo reticular del tálamo es fundamental para el mantenimiento y la duración de las crisis de ausencia. Siendo la región rostral un importante componente para la finalización de las descargas espiga-onda lo que deberá de resolverse en experimentos futuros.



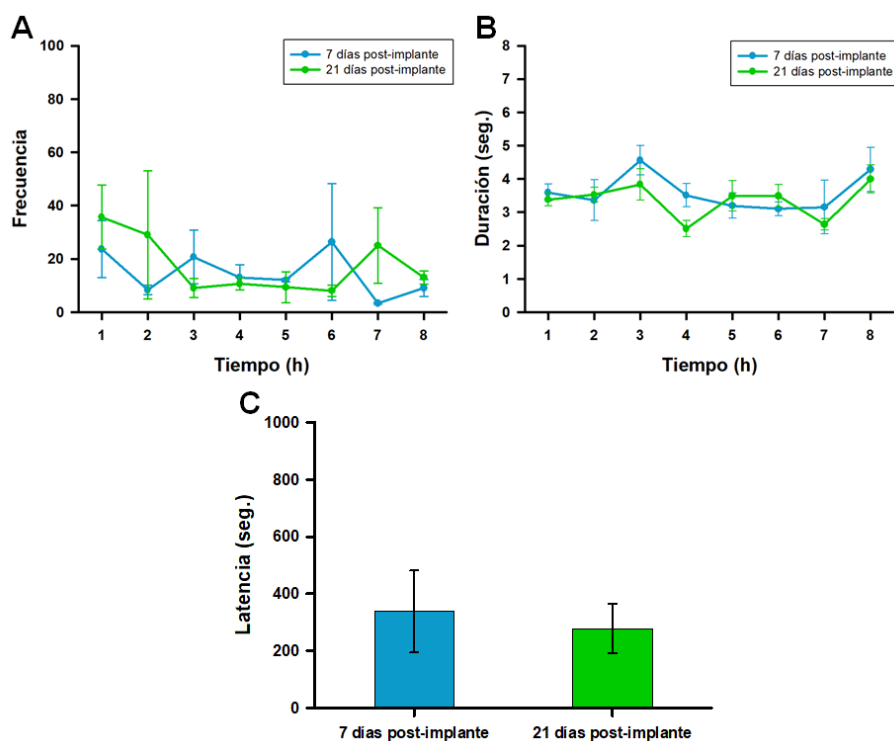
**Figura 57. Circuito tálamo-cortical en la rata *taiep* durante la administración de fármacos en el núcleo reticular del tálamo rostral.** **A)** La rata *taiep* tiene una disminución en la expresión de las enzimas GAD-65 y 67 en la corteza somatosensitiva, lo que incrementa la probabilidad de disparo de las neuronas piramidales (NP), con un incremento concomitante en la expresión de la enzima GAD-67 a nivel talámico, promoviendo un aumento en la síntesis de GABA y la inhibición de las neuronas tálamo-corticales (TC), causando la disminución las aferencias a la corteza somatosensitiva. **B)** El bloqueo de los canales de  $Ca^{2+}$  tipo T con etosuximida o con mibefradil, y **C)** la inhibición mediada por el receptor  $GABA_A$  al administrar el gaboxadol en el núcleo reticular del tálamo rostral (NRTc), suprime las descargas espiga-onda y promueve su terminación, produciendo descargas con poca duración. **D)** Efecto contrario se obtiene con la bicuculina que bloquea la inhibición del receptor  $GABA_A$ , dificultando la entrada de información a la corteza somatosensitiva. NRTc: núcleo reticular del tálamo caudal. Las sinapsis excitatorias se muestran con punta en flecha, mientras que las sinapsis inhibitorias se muestran con un extremo en círculo lleno.

## 12. ANEXOS

**12.1 COMPARACIÓN TEMPORAL DE LA PRESENTACIÓN DE LAS CRISIS DE AUSENCIA**

Se realizó un registro basal a los 7 días post-implante y posteriormente a los 21 días post-implante, se comparó el número y la duración de las crisis, así como la latencia para que se presente la primera crisis.

No se encontraron diferencias significativas en el número, duración y latencia de las crisis de ausencia a los 21 días post-implante en contraste con respecto a los 7 días post-implante, como se muestra en la Figura 58. Esto es relevante porque muestra que no modifica las descargas espiga-onda.

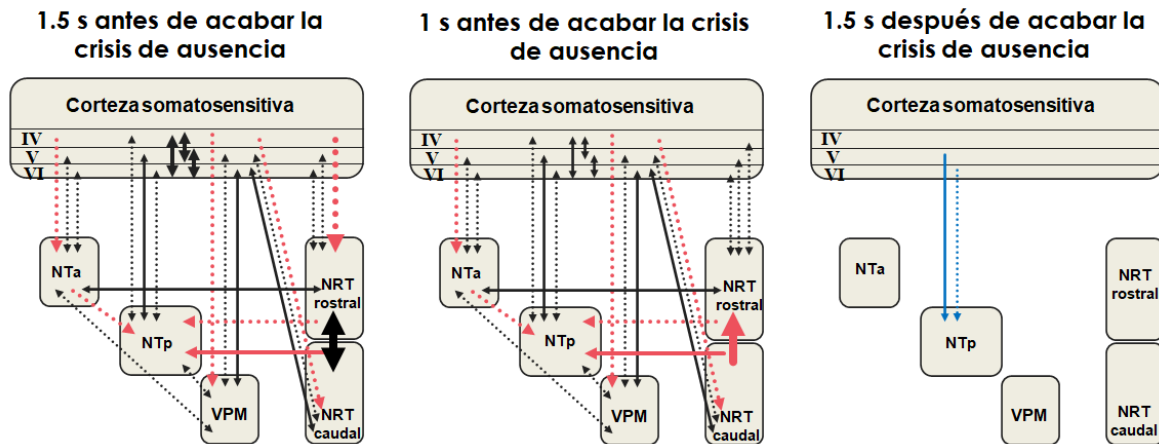


**Figura 58. Tiempo post-implante de electrodos y cánulas en el registro de las crisis de ausencia.** No se encontraron diferencias significativas en la (A) frecuencia, (B) duración y (C) latencia entre el día 7 post-implante y el 21 post-implante.

## **12.2 ACOPLE DE LAS ESTRUCTURAS QUE CONFORMAN EL CIRCUITO TÁLAMO CORTICAL DURANTE UNA DESCARGA ESPIGA-ONDA**

Tan solo 1.5 segundos antes del inicio de las descargas espiga-onda existe un incremento en el acople bidireccional de los microcircuitos en la corteza somatosensitivas, específicamente en las capas corticales IV, V y VI (Sitnikova y cols., 2008; Lüttjohann y cols., 2014; Sysoeva y cols., 2016). En las ratas GAERS también se ha reportado un incremento en la actividad de las neuronas piramidales de las capas profundas de la corteza somatosensitivas antes del inicio de las descargas espiga-onda (Polack y cols., 2007). Posterior a esta actividad hay un aumento en el acople desde la corteza somatosensitiva hacia el tálamo, con un incremento en el ritmo delta del electroencefalograma previo a la descarga espiga-onda, representando un estado de preparación para el inicio de la descarga misma (véase Figura 59; Sitnikova y cols., 2008; Sitnikova y van Luijtelaar, 2009).

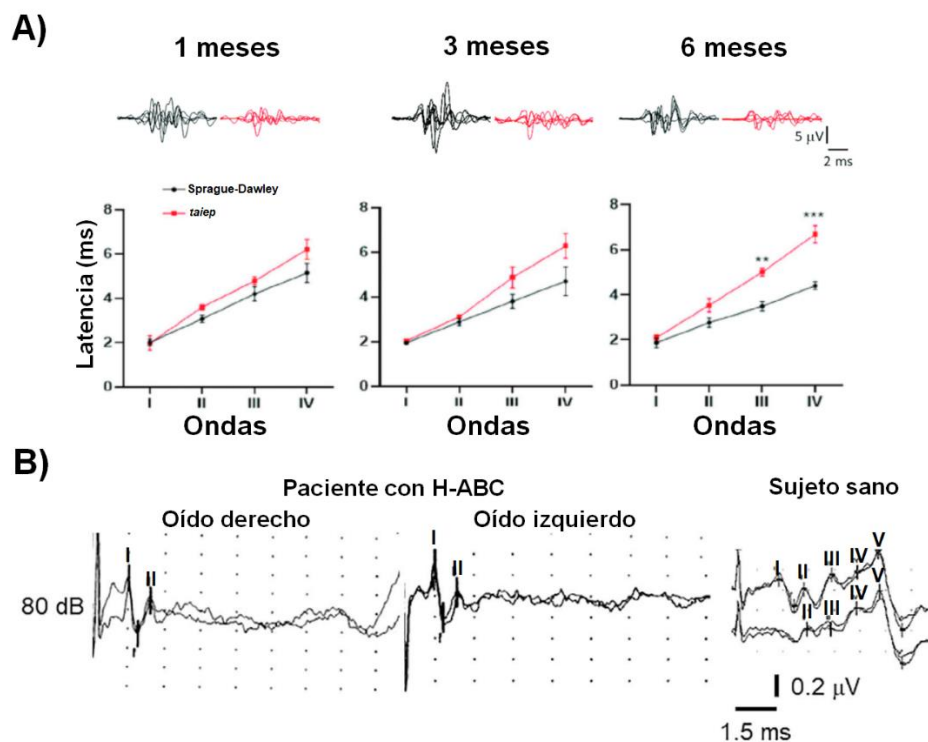
Durante la descarga espiga-onda existe un aumento del acople direccional de la corteza cerebral al núcleo reticular del tálamo y de este núcleo hacia los núcleos talámicos (Sitnikova y cols., 2008; Lüttjohann y cols., 2014). Las aferencias GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo disminuyen la probabilidad de disparo de las neuronas tálamo-corticales (Cope y cols., 2009). Un segundo previo al cese de la descarga espiga-onda, la región caudal del núcleo reticular del tálamo aumenta su acople con la región rostral, mientras disminuye el acople direccional de la corteza somatosensitiva y el núcleo reticular del tálamo (Lüttjohann y cols., 2014). Para finalmente, dar termino a la descarga espiga-onda, quedando solo un aumento en el acople entre la corteza somatosensitiva y los núcleos talámicos posteriores, que aún se desconoce su rol (véase Figura 59; Lüttjohann y cols., 2014).



**Figura 59. Acople de las estructuras que conforman el circuito tálamo cortical durante una descarga espiga-onda.** El panel izquierdo y central representan el acople del circuito tálamo-cortical 1.5 s y 1 s antes de terminar la descarga espiga-onda, mientras que el panel derecho representa el acople 1.5 s después de haber terminado la descarga. Las flechas unidireccionales rojas ( $\rightarrow$ ) representan acoples direccionales, las flechas bidireccionales negras ( $\leftrightarrow$ ) representan acoples bidireccionales, las flechas azules ( $\rightarrow$ ) indican acoples significativamente menores que durante la descarga espiga-onda, pero mayores que durante el registro pre-ictal. Las líneas continuas indican conexiones anatómicas directas mientras las discontinuas corresponden a conexiones indirectas entre las estructuras. NTa: núcleos talámicos anteriores, NTP: núcleos talámicos posteriores, VPM: núcleo ventroposteromedial del tálamo, NRT: núcleo reticular del tálamo. Modificado de Lüttjohann y cols., 2014.

### 12.3 POTENCIALES PROVOCADOS AUDITIVOS EN LA RATA *taiep* Y EN UN PACIENTE CON H-ABC

Mediante potenciales provocados auditivos en la rata *taiep* y en un paciente con H-ABC se reportó que solo las I y II se logran apreciar, demostrando que la patología por mutación de la TUBB4A solo afecta al sistema nervioso central, y que hay una homología entre la rata *taiep* y la enfermedad humana (véase Figura 60).



**Figura 60. Potenciales provocados auditivos en la rata *taiep* y en un paciente con H-ABC. A)** La rata *taiep* presenta un aumento significativo en la latencia para las ondas III y IV, de la oliva superior al lemnisco lateral, conforme avanza la edad de la rata (\*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ) respecto a la rata Sprague-Dawley. En la parte superior de cada grafica se pueden observar los registros de los potenciales provocados producidos por clics de 80 dB en la rata Sprague-Dawley (en negro) y en ratas *taiep* (en rojo). **B)** Potenciales provocados auditivos producidos por clics de 80 dB de un paciente con H-ABC reportado en Chiapas, México por nuestro equipo. Solo las ondas I y II, de la cóclea al nervio ótico, se logran apreciar. A la derecha se incluye un potencial provocado de un sujeto sano para su comparación. Modificado de Lopez-Juárez y cols., 2020.

## 12.4 PREVALENCIA DE EPILEPSIA EN CASOS CON LEUCODISTROFIA

**Tabla 9. Prevalencia de epilepsia en casos con leucodistrofia.**

Sujetos estudiados	Leucodistrofia	Prevalencia de epilepsia	Tipo de crisis	Lugar	Referencia
122	8.2% Metacromática 7.4% EPM 4.9% EM 4.1% ADL 10.4% otras leucodistrofias 51% sin diagnostico	49%	No especificado	EUA	(Bonkowsky y cols., 2010)
333	<b>43.5% Astrocitopatías</b> 19.8% EA 15.3% ESBD 8.4% LMQS <b>56.5% Trastornos de la mielina</b> 34% EPM 12.6% Metacromática 4.8% Enf. de Krabbe 3.9% ADL X 0.9% Enfermedad de Canavan	Total= 30.60% <b>55.90%</b> 77.30% 41% 32.10% <b>11.20%</b> 7% 14.30% 18.80% 23.10% 33.30%	Crisis de inicio focal y crisis que evolucionan de focales a tónico-clónicas bilaterales	China	(Zhang y cols., 2020)
1	LMQS	-	Descargas espiga-onda durante el sueño	Serbia	(Jocic-Jakubi y cols., 2007)
553	23% ADL 44% Enf. de Hurler 11% Enf. de Krabbe 23% Metacromática	Total 33% 11% 0% 13% 6.90%	No especificado	EUA	(Bonkowsky y cols., 2020)
7	Leucodistrofia no especificada	100%	No especificado	Japón	(Itoh y cols., 2019)
1	LMQS	-	Crisis de ausencia	España	(Ballesteros-Cogollos y cols., 2020)
63 sujetos de 43 familias	LMQS	solo se reportó en 5 pacientes de 7	Generalizadas tónico-clónicas	Sudán	(Amin y cols., 2022)
4	LeuPol-3	25%	No especificado	Republica Checa	(Kulhánek y cols., 2019)
9	LMQS	66.66%	66.66% crisis que evolucionan de focales a tónico-clónicas bilaterales 33.33% generalizadas tónico-clónicas	Turquía	(Yalçinkaya y cols., 2003)
30	H-ABC	18%	No especificado	-	(Ferreira y cols., 2014)

EPM: Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, EM: Enfermedad mitocondrial, ADL: Adrenoleucodistrofia, EA: Enfermedad de Alexander, ESBD: Enfermedad de la sustancia blanca que desaparece, LMQS: Leucodistrofia megalencefálica con quistes subcorticales, ADL X: Adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X, LeuPol-3: Leucodistrofia relacionada al ARN-polimerasa III, H-ABC: Hipomielinización con atrofia de núcleos basales y cerebelo, EUA: Estados Unidos de América.

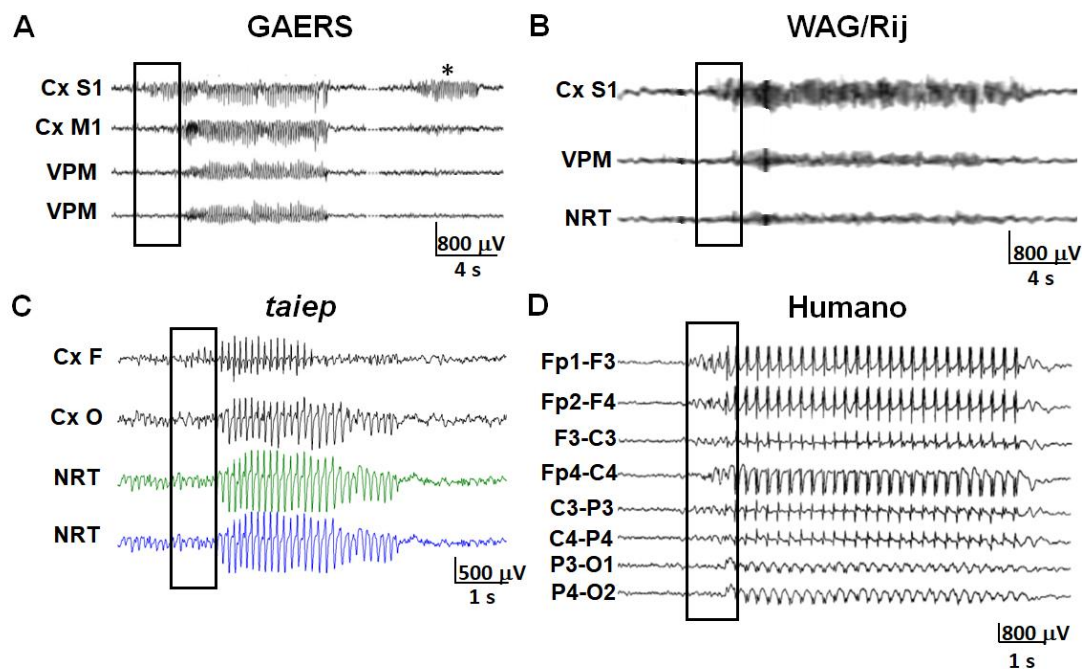
## 12.5 PREVALENCIA DE EPILEPSIA EN LAS TUBULINOPATÍAS

Tabla 10. Prevalencia de epilepsia en las tubulinopatías.

Sujetos	Prevalencia de epilepsia	Tipo de crisis	Referencia
<b>TUBB2B</b>			
36	33%	No especificado	(Bahi-Buisson y cols., 2014)
1		Focales	(Romaniello y cols., 2012)
3	100%	No especificado	(Cushion y cols., 2013)
4	75%	33% Espasmos infantiles 66% Crisis generalizadas	(Jaglin y cols., 2009)
3	66%	50% Crisis nocturna focal 50% Espasmos infantiles	(Amrom y cols., 2014)
<b>TUBB3</b>			
22	45.45%	No especificado	(Bahi-Buisson y cols., 2014)
1		Crisis tónico-clónico generalizadas	(Cushion y cols., 2013)
9	22.22%	50% Crisis febriles prolongadas 50% Epilepsia neonatal refractaria	(Poirier y cols., 2010)
3	33.00%	Crisis focales	(Oegema y cols., 2015)
<b>TUBB4A</b>			
2	50%	Crisis febriles	(Carvalho y cols., 2015)
30	18%	No especificado	(Ferreira y cols., 2014)
<b>TUBB5</b>			
6	50%	No especificado	(Bahi-Buisson y cols., 2014)
<b>TUBA1A</b>			
90	30%	No especificado	(Bahi-Buisson y cols., 2014)
2	100%	50% Crisis de ausencia con mioclonus 50% no especificado	(Oegema y cols., 2015)
4	50%	Crisis focales	(Jansen y cols., 2011)
<b>TUBA8</b>			
4	100%	25% Espasmos infantiles 75% Crisis tónico-clónicas	(Abdollahi y cols., 2009)

## 12.6 COMPARACIÓN DE LOS REGISTROS ELECTROENCEFALOGRÁFICOS DE LAS RATAS GAERS, WAG/RIJ Y TAIEP

El papel de la corteza somatosensitiva como la iniciadora de las descargas espiga-onda es respaldado por los registros electroencefalográficos de las ratas WAG-Rij y GAERS, e incluso estudios en humanos con inicio de las descargas en regiones cortico-frontales, similar a lo que obtuvimos en nuestros registros en la rata *taiep* en el presente trabajo (véase Figura 25 y 61; Panayiotopoulos, 2001; Polack y cols., 2007; Van Luijtelaaar y cols., 2011; Depaulis y Charpier, 2018). Estos hallazgos han llevado a la hipótesis que las crisis de ausencia no son realmente "generalizadas", con compromiso cortical inmediato y global, sino que se inician a partir de redes corticales específicas y luego se propagan al circuito neuronal tálamo-cortical.



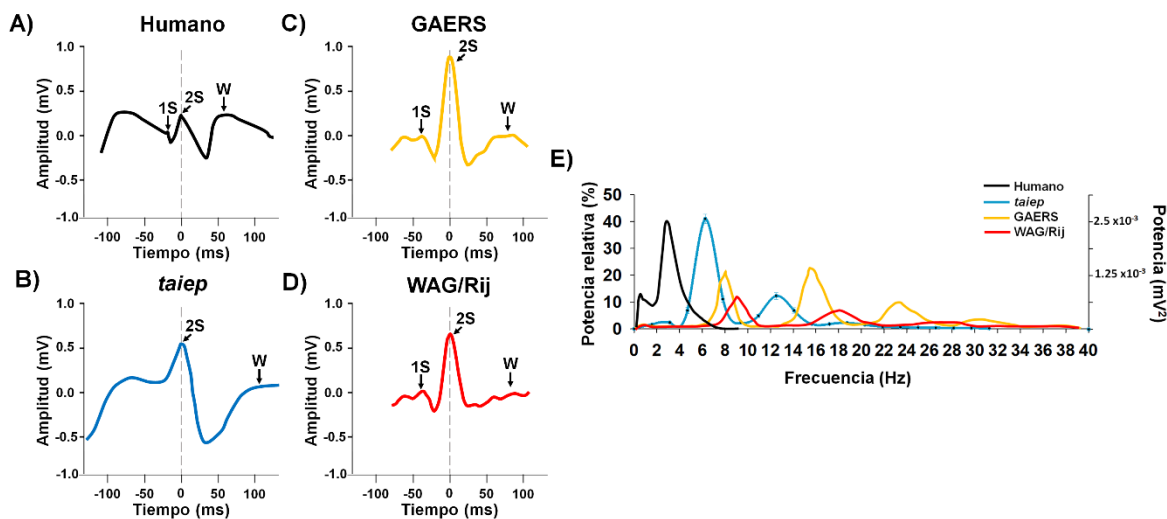
**Figura 61. Registros electroencefalográficos durante las crisis de ausencia en el humano y modelos en rata.** A) Descargas espiga-onda en la rata GAERS, B) la rata WAG/Rij, C) rata *taiep* y en un D) infante masculino de 8 años con epilepsia generalizada del tipo de ausencia típica. Note en los recuadros como en los cuatro casos hay un inicio anticipado de las descargas espiga-onda en las regiones frontales del encéfalo. En la rata GAERS (\*) y WAG/Rij se han reportado descargas espiga-onda aisladas en la corteza frontal semejantes a las observadas en la rata *taiep* en el presente trabajo. Cx S1: corteza somatosensitiva primaria, Cx M1: corteza motora primaria, VPM: núcleo ventroposteromedial del tálamo, NRT: núcleo reticular del tálamo, Cx F: corteza frontal, Cx O: corteza occipital. El registro en el infante respeta la nomenclatura del sistema 10-20 para el acomodo de los electrodos. Tomado de Polak; 2007, van Luijtelaaar y cols., 2011, Panayiotopoulos, 2011.

### **12.7 MORFOLOGÍA DE LAS DESCARGAS ESPIGA-ONDA EN EL HUMANO Y LA RATA *TAIEP*, GAERS Y WAG/RIJ**

Morfológicamente las descargas espiga-onda se les ha identificado una primera espiga positiva (1S) que sugiere potenciales locales de la corteza cerebral, seguido de una segunda espiga positiva (2S) generada por potenciales que provienen de la corteza al tálamo, ambas espigas incrementan en amplitud en registros frontales; y una onda (W) producto de la reverberación tálamo-cortical (véase Figura 62; Weir, 1965; Sitnikova y Van Luijtelaar, 2007; Akman y cols., 2010).

En la rata *taiep* se puede apreciar incremento en la duración de la onda (W) que incluso enmascara la primera espiga positiva (1S) de la siguiente descarga espiga-onda, probablemente por la patología desmielinizante que enlentece la transmisión de los potenciales de acción dentro del circuito tálamo-cortical (véase Figura 62).

Lo anterior sustenta que el circuito tálamo-cortical de la rata *taiep* se encuentra desmielinizado; sin embargo, este circuito no es afectado por el patrón progresivo desmielinizante de la leucodistrofia que presenta la rata.



**Figura 62. Morfología de las descargas espiga-onda.** **A)** Descarga espiga-onda de un paciente femenino de 12 años de edad con diagnóstico de epilepsia de ausencia típica, **B)** en una rata *taiep* de 6 meses de edad, **C)** en una rata GAERS, y **D)** en una rata WAG/Rij. Se consideró la segunda espiga positiva (2S) de la descarga espiga-onda como el tiempo cero de los registros. **E)** Espectro de potencia de las descargas espiga-onda en un paciente con epilepsia de ausencia y los modelos en roedores. El “eje de ordenadas” para el espectro de la descarga espiga onda del paciente se colocó del lado derecho de la gráfica. Note que las descargas espiga-onda de la rata *taiep* tienen frecuencias más lentas, incluso la onda (W) tiene una mayor duración respecto a las ratas GAERS y las WAG/Rij, enmascarando a la primera espiga positiva (1S). Modificado de Weir, 1965, Amor y cols., 2009, Akman y cols., 2010.

## 13. REFERENCIAS

Abdollahi, M. R., Morrison, E., Sirey, T., Molnar, Z., Hayward, B. E., Carr, I. M., Springell, K., Woods, C. G., Ahmed, M., Hattingh, L., Corry, P., Pilz, D. T., Stoodley, N., Crow, Y., Taylor, G. R., Bonthron, D. T. y Sheridan, E. (2009). Mutation of the Variant  $\alpha$ -Tubulin TUBA8 results in polymicrogyria with optic nerve hypoplasia. *American Journal of Human Genetics*, **85**:737–744.

Acevedo, C. (2008). Informe sobre la epilepsia en Latinoamérica. *Organización Panamericana de la Salud. Panamá*, 3–92.

Adibi, M. (2019). Whisker-mediated touch system in rodents: from neuron to behavior. *Frontiers in Systems Neuroscience*, **13**:1–24.

Aker, R. G., Özyurt, H. B., Yananli, H. R., Çakmak, Y. Ö., Özkaynakçi, A. E., Sehirli, Ü., Saka, E., Çavdar, S. y Onat, F. Y. (2006). GABA<sub>A</sub> receptor mediated transmission in the thalamic reticular nucleus of rats with genetic absence epilepsy shows regional differences: Functional implications. *Brain Research*, **1111**:213–221.

Akman, O., Demiralp, T., Ates, N. y Onat, F. Y. (2010). Electroencephalographic differences between WAG/Rij and GAERS rat models of absence epilepsy. *Epilepsy Research. Elsevier B.V.*, **89**:185–193.

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**:1–11.

Alfaro, E. V. (2008). Receptores GABA. *Universidad de Costa Rica*, 1:8–16.

Alsina, J. (1990). Sobre la enfermedad sagrada. en *Tratados Hipocráticos* por Alsina, T. de J. Traducción de José Alsina, pp. 87–96.

Amin, M., Vignal, C., Hamed, A. A. A., Mohammed, I. N., Elseed, M. A., Drunat, S., Babai, A., Eltarifee, E., Elbadi, I., Abubaker, R., Mustafa, D., Yahia, A., Koko, M., Osman, M., Bakhit, Y., Elshafea, A., Alsiddig, M., Haroun, S., Lelay, G., Elsayed, L. E. O., Ahmed, A. E., Boespflug-Tanguy, O. y Dorboz, I. (2022). Novel variants causing megalencephalic leukodystrophy in Sudanese families. *Journal of Human Genetics*, **67**:127–132.

Amrom, D., Tanyalçin, I., Verhelst, H., Deconinck, N., Brouhard, G. J., Décarie, J. C., Vanderhasselt, T., Das, S., Hamdan, F. F., Lissens, W., Michaud, J. L. y Jansen, A. C. (2014). Polymicrogyria with dysmorphic basal ganglia? Think tubulin! *Clinical Genetics*, **85**:178–183.

Ashrafi, M. R., Amanat, M., Garshasbi, M., Kameli, R., Nilipour, Y., Heidari, M., Rezaei, Z. y Tavasoli, A. R. (2020). An update on clinical, pathological, diagnostic, and therapeutic perspectives of childhood leukodystrophies. *Expert Review of Neurotherapeutics*. Taylor & Francis, **20**:65–84.

Ates, N., Sahin, D. y Ilbay, G. (2004). Theophylline, a methylxanthine derivative, suppresses absence epileptic seizures in WAG/Rij rats. *Epilepsy and Behavior*, **5**:645–648.

Avanzini, G., de Curtis, M., Marescaux, C., Panzica, F., Spreafico, R. y Vergnes, M. (1992). Role of the thalamic reticular nucleus in the generation of rhythmic thalamo-cortical activities subserving spike and waves. *Journal of Neural Transmission*, **35**:85–86.

Avoli, M. (2012). A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia*, **53**:779–789.

Bahi-Buisson, N., Poirier, K., Fourniol, F., Saillour, Y., Valence, S., Lebrun, N., Hully, M., Bianco, C. F., Boddaert, N., Elie, C., Lascelles, K., Souville, I., Beldjord, C. y Chelly, J. (2014). The wide spectrum of tubulinopathies: What are the key features for the diagnosis? *Brain*, **137**:1676–1700.

Bal, T., von Krosigk, M. y McCormick, D. A. (1995a). Role of the ferret perigeniculate nucleus in the generation of synchronized oscillations in vitro. *The Journal of Physiology London*, **483**:665–685.

Bal, T., von Krosigk, M. y McCormick, D. A. (1995b). Synaptic and membrane mechanisms underlying synchronized oscillations in the ferret lateral geniculate nucleus in vitro. *The Journal of Physiology London*, **483**:641–663.

Bal, T. y McCormick, D. A. (1993). Mechanisms of oscillatory activity in guinea-pig nucleus reticularis thalami in vitro: a mammalian pacemaker. *The Journal of Physiology Lon*, **468**:669–691.

Ballesteros-Cogollos, V., Morell-García, M., Pérez-Gramunt, M. A., Montesinos-Sanchís, E., Mirón-Mombiela, R., Martínez-Martínez, J. C., Tomás-Vila, M. y Martínez-Castellano, F. (2020). Leucoencefalopatía megalencefálica con quistes: importancia de la descripción clínica en la era genética Virginia. *Revista de Neurología*, **71**:373–376.

Baraban, S. C. y Schwartzkroin, P. A. (1995). Electrophysiology of CA1 pyramidal neurons in an animal model of neuronal migration disorders: prenatal methylazoxymethanol treatment. *Epilepsy Research*, **22**:145–156.

Benítez, J., Holmgreen, B., Eguibar, J. R. y Roncagliolo, M. (1997). Multimodal sensory evoked potentials in a rat model of demyelinating disease, 189.

Berg, A. y Cross, J. (2010). Propuesta de la ILAE de terminología revisada para la organización de crisis y epilepsias 2010. *Lancet*, 459–461.

Bloom, F. E. (2007). Neurotransmisión y sistema nervioso central. en *Las bases farmacológicas de la terapéutica de Goodman & Gilman* por Brunton, L. L., Lazo, J. S., y Parker, K. L. Mc Graw Hill, pp. 317–340.

Blumenfeld, H., Klein, J. P., Schridde, U., Vestal, M., Rice, T., Khera, D. S., Bashyal, C., Giblin, K., Paul-Laughinghouse, C., Wang, F., Phadke, A., Mission, J., Agarwal, R. K., Englot, D. J., Motelow, J., Nersesyan, H., Waxman, S. G. y Levin,

A. R. (2008). Early treatment suppresses the development of spike-wave epilepsy in a rat model. *Epilepsia*, **49**:400–409.

Blumenfeld, H. y McCormick, D. A. (2000). Corticothalamic inputs control the pattern of activity generated in thalamocortical networks. *The Journal of Neuroscience*, **20**:5153–5162.

Bonansco, C., Fuenzalida, M. y Roncagliolo, M. (2004). Altered synaptic and electrical properties of lumbar motoneurons in the neurological glial mutant *taiep* rat. *Experimental Brain Research*, **156**:104–110.

Bonansco, C., Fuenzalida, M., Olivares, V., Molina, C. y Roncagliolo, M. (2007). Asynchronous transmission in the CA3-CA1 hippocampal synapses in the neurological mutant *taiep* rat. *Journal of Neuroscience Research*, **85**:223–229.

Bonkowsky, J. L., Nelson, C., Kingston, J. L., Filloux, F. M., Mundorff, M. B. y Srivastava, R. (2010). The burden of inherited leukodystrophies in children. *Neurology*, **75**:718–725.

Bonkowsky, J. L., Wilkes, J., Ying, J. y Wei, W.-Q. (2020). Novel and known morbidities of leukodystrophies identified using a phenome-wide association study. *Neurology: Clinical Practice*, **10**:406–414.

Brailowsky, S., Kunimoto, M., Silva-Barrat, C., Menini, C. y Naquet, R. (1990). Electroencephalographic study of the GABA-withdrawal syndrome in rats. *Epilepsia*, **31**:369–77.

Braunstein, G. (2011). Testículos. en *Greenspan Endocrinología básica y clínica*. 9a ed por Gardner, D. y Shoback, D. Mc Graw Hill, 395–422.

Brigo, F. y Igwe, S. C. (2010). Ethosuximide , sodium valproate or lamotrigine for absence seizures in children and adolescents (Review). *The Cochrane Library*, 1–14.

Burgess, D. L., Jones, J. M., Meisler, M. H. y Noebels, J. L. (1997). Mutation of the Ca<sup>2+</sup> channel  $\beta$  subunit gene *Cchb4* is associated with ataxia and seizures in the lethargic (lh) mouse. *Cell*, **88**:385–392.

Buzsáki, G. (1991). The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience*, **41**:351–364.

Carvalho, D., Santos, S., Martins, B. y Marques, F. P. (2015). TUBB4A novel mutation reinforces the genotype-phenotype correlation of hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum. *Brain*, **138**:e327–e329.

Celikyurt, I. K., Ulak, G., Mutlu, O., Akar, F. Y., Erden, F. y Komsuoglu, S. S. (2012). Lamotrigine effects sensorimotor gating in WAG/Rij rats. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, **3**:126–131.

Chahboune, H., Mishra, A. M., DeSalvo, M. N., Staib, L. H., Purcaro, M., Scheinost, D., Papademetris, X., Fyson, S. J., Lorincz, M. L., Crunelli, V., Hyder, F. y Blumenfeld, H. (2009). DTI abnormalities in anterior corpus callosum of rats with

spike-wave epilepsy. *NeuroImage*. Elsevier Inc., **47**:459–466.

Chakraborti, S., Natarajan, K., Curiel, J., Janke, C. y Liu, J. (2016). The emerging role of the tubulin code: From the tubulin molecule to neuronal function and disease. *Cytoskeleton*, **73**:521–550.

Chen, S. Der, Yeh, K. H., Huang, Y. H. y Shaw, F. Z. (2011). Effect of intracranial administration of ethosuximide in rats with spontaneous or pentylenetetrazol-induced spike-wave discharges. *Epilepsia*, **52**:1311–1318.

Cheong, E. y Shin, H. S. (2013). T-type  $\text{Ca}^{+2}$  channels in absence epilepsy. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, **1828**:1560–1571.

Cheong, E. y Shin, H. S. (2014). T-type  $\text{Ca}^{+2}$  channels in absence epilepsy. *Pflügers Archives European Journal of Physiology*, **466**:719–734.

Citraro, R., Leo, A., De Fazio, P., De Sarro, G. y Russo, E. (2015). Antidepressants but not antipsychotics have antiepileptogenic effects with limited effects on comorbid depressive-like behaviour in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *British Journal of Pharmacology*, **172**:3177–3188.

Citraro, R., Russo, E., Di Paola, E. D., Ibbadu, G. F., Gratteri, S., Marra, R. y De Sarro, G. (2006). Effects of some neurosteroids injected into some brain areas of WAG/Rij rats, an animal model of generalized absence epilepsy. *Neuropharmacology*, **50**:1059–1071.

Coenen, A. M. L. y Van Luijtelar, E. L. J. M. (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: A review of the WAG/Rij strain of rats. *Behavior Genetics*, **33**:635–655.

Contreras, D. y Steriade, M. (1996). Spindle oscillation in cats: The role of corticothalamic feedback in a thalamically generated rhythm. *Journal of Physiology London*, **490**:159–179.

Cooper, J. R., Bloom, F. E. y Roth, R. H. (2003). Amino acid transmitters. en *The biochemical basis of neuropharmacology*. 8a ed. Oxford University press, pp 105-150.

Cope, D. W., Giovanni, G. Di, Fyson, S. J., Orbán, G., Adam, C., Lőrincz, M. L., Gould, T. M., Carter, D. a y Crunelli, V. (2009). Enhanced tonic  $\text{GABA}_A$  inhibition in typical absence epilepsy. *Nature Medicine*, **15**:1392–1398.

Cope, D. W., Hughes, S. W. y Crunelli, V. (2005).  $\text{GABA}_A$  receptor-mediated tonic inhibition in thalamic neurons. *Journal of Neuroscience*, **25**:11553–11563.

Corona, J. (2012). *Caracterización de las crisis de ausencia en la rata taiep bajo el efecto de valproato y lamotrigina*. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor. Instituto de Fisiología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, pp. 1–66

Cortés, C., Gavito, B., Ita, M. L., Valencia, J. y Eguibar, J. R. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on

*taiep* rats. *Synapse*, **58**:95–101.

Cortés, C. y Fierro-Rojas, A. (2018). Género y trastornos afectivos. en *Inclusión del análisis de género en la ciencia*. 1a ed por Blazquez Graf, N. y Chapa Romero, A. C. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 31–45.

Cortez, M. A., Cunnane, S. C. y Snead, O. C. (2002). Brain sterols in the AY-9944 rat model of atypical absence seizures. *Epilepsia*, **43**: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*. Elsevier B.V., **260**:175–184.

Coulter, D. A., Huguenard, J. R. y Prince, D. A. (1989). Characterization of ethosuximide reduction of low-threshold calcium current in thalamic neurons. *Annals of Neurology*, **25**:582–593.

Couve, E., Cabello, J. F., Krsulovic, J. y Roncagliolo, M. (1997). Binding of microtubules to transitional elements in oligodendrocytes of the myelin mutant *taiep* rat. *Journal of Neuroscience Research*, **47**:573–581.

Crunelli, V., Larincz, M. L., Connelly, W. M., David, F., Hughes, S. W., Lambert, R. C., Leresche, N. y Errington, A. C. (2018). Dual function of thalamic low-vigilance state oscillations: Rhythm-regulation and plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, **19**:107–118.

Crunelli, V. y Leresche, N. (2002). Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nature Reviews Neuroscience*, **3**:371–382.

Crunelli, V., Leresche, N. y Cope, David W (2012). GABA<sub>A</sub> receptor function in typical absence seizures. en *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. 4<sup>a</sup> ed por Avoli, M. National Center for Biotechnology Information, pp. 1–17.

Curiel, J., Bey, G. R., Takanohashi, A., Bugiani, M., Fu, X., Wolf, N. I., Nmezi, B., Schiffmann, R., Bugaighis, M., Pierson, T., Helman, G., Simons, C., van der Knaap, M. S., Liu, J., Padiath, Q. y Vanderver, A. (2017). TUBB4A mutations result in specific neuronal and oligodendrocytic defects that closely match clinically distinct phenotypes. *Human Molecular Genetics*, **26**:4506–4518.

Cushion, T. D., Dobyns, W. B., Mullins, J. G. L., Stoodley, N., Chung, S. K., Fry, A. E., Hehr, U., Gunny, R., Aylsworth, A. S., Prabhakar, P., Uyanik, G., Rankin, J., Rees, M. I. y Pilz, D. T. (2013). Overlapping cortical malformations and mutations in TUBB2B and TUBA1A. *Brain*, **136**:536–548.

Damasio, A. R. (1989). Time-locked multiregional retroactivation: a systems-level proposal for the neural substrates of recall and recognition. en *Cognition*, pp. 25–62.

Depaulis, A. y Charpier, S. (2017). Pathophysiology of absence epilepsy: Insights from genetic models. *Neuroscience Letters*, **667**:53–65.

Dezsi, G., Ozturk, E., Stanic, D., Powell, K. L., Blumenfeld, H. y Terence, J. (2013).

Ethosuximide reduces epileptogenesis and behavioural comorbidity comorbidity in the GAERS model of genetic generalised epilepsy. *Epilepsia*, **54**:635–643.

Duncan, I. D., Lunn, K. F., Holmgren, B., Urba-Holmgren, R. y Brignolo-Holmes, L. (1992). The *taiep* rat: A myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *Journal of Neurocytology*, **21**:870–884.

Duncan, I. D., Bugiani, M., Radcliff, A. B., Moran, J. J., Lopez-Anido, C., Duong, P., August, B. K., Wolf, N. I., van der Knaap, M. S. y Svaren, J. (2017). A mutation in the *Tubb4a* gene leads to microtubule accumulation with hypomyelination and demyelination. *Annals of Neurology*, **81**:690–702.

Durmus, N., Kaya, T., Gültürk, S., Demir, T., Parlak, M. y Altun, A. (2013). The effects of L type calcium channels on the electroencephalogram recordings in WAG/RIJ rat model of absence epilepsy. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **17**:1149–1154.

Dweikat, I. M., Damsah, N. y Khalaf, R. (2014). A distinct phenotype of childhood leukodystrophy presenting as absence seizure. *Journal of Pediatric Neurosciences*, **9**:63–65.

Ebert, B., Thompson, S. a, Saounatsou, K., McKernan, R., Krosggaard-Larsen, P. y Wafford, K. a (1997). Differences in agonist/antagonist binding affinity and receptor transduction using recombinant human gamma-aminobutyric acid type a receptors. *Molecular Pharmacology*, **52**:1150–1156.

Eguibar, J. R. y Cortés, C. (2010a). El mutante de mielina *taiep* como modelo de crisis de ausencia. *Gaceta Médica México*. Puebla, México, **146**:11–18.

Eguibar, J. R. y Cortés, C. (2010b). Modelos de crisis de ausencia en roedores. *Gaceta Medica de Mexico*, **146**:332–338.

Eguibar, J. R., Cortés, M. C. y Roncagliolo, M. (2008). The myelin mutant rat *taiep* showed an alteration in the central components of somatosensory and motor evoked potentials. *Clinical Neurophysiology*, **119**:S153.

Eguibar, J. R., Cortes, C., Ahumada-Juárez, J. C., Piazza, V. y Hernandez, V. H. (2021). The myelin mutant *taiep* rat as a model for developmental brain disorders. en *Diagnosis, management and modeling of neurodevelopmental disorders* por Martin, C., Preedy, V., y Rajendram, R. The Neuroscience of Development, 557–566.

Eguibar, J. R., Cortés, C., Ugarte, A. y León-Chávez, A. (2014). The myelin mutant rat *taiep* as a model of neuroimmunological disease. *Advances in Neuroimmune Biology*, **5**:9–17.

Eguibar, J. R., Cortes, C., Lara-Lozano, M. y Mendiola, D. M. (2012). Dopaminergic D2-like agonists produce yawning in the myelin mutant *taiep* and Sprague-Dawley rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. Elsevier Inc., **102**:118–123.

Elms, J., Powell, K. L., van Raay, L., Dedeurwaerdere, S., O'Brien, T. J. y Morris,

- M. J. (2013). Long-term valproate treatment increases brain neuropeptide Y expression and decreases seizure expression in a genetic rat model of absence epilepsy. *Plos One*, **8**:1–6.
- Fariello, R. G. y Golden, G. T. (1987). The THIP-induced model of bilateral synchronous spike and wave in rodents. *Neuropharmacology*, **26**:161–165.
- Farrant, M. y Nusser, Z. (2005). Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA<sub>A</sub> receptors. *Nature Reviews Neuroscience*, **6**:215–229.
- Faulhaber, J., Steiger, A. y Lancel, M. (1997). The GABA<sub>A</sub> agonist THIP produces slow wave sleep and reduces spindling activity in NREM sleep in humans. *Psychopharmacology*, **130**:285–291.
- Ferreira, C., Poretti, A., Cohen, J., Hamosh, A. y Naidu, S. (2014). Novel TUBB4A mutations and expansion of the neuroimaging phenotype of hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC). *American Journal of Medical Genetics, Part A*, **164**:1802–1807.
- Fischer-Williams, M., Poncet, M., Richie, D. y Naquet, R. (1968). Light-induced epilepsy in the baboon, *Papio papio*: cortical and depth recordings. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, **25**:557–569.
- Fisher, R. S., Cross, J. H., D'Souza, C., French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., Schulze-Bonhage, A., Somerville, E., Sperling, M., Yacubian, E. M. y Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, **58**:531–542.
- Fletcher, C. F., Lutz, C. M., O'Sullivan, T. N., Shaughnessy, J. D., Hawkes, R., Frankel, W. N., Copeland, N. G. y Jenkins, N. A. (1996). Absence epilepsy in tottering mutant mice is associated with calcium channel defects. *Cell*, **87**:607–617.
- Fogerson, P. M. y Huguenard, J. R. (2016). Tapping the brakes: Cellular and synaptic mechanisms that regulate thalamic oscillations. *Neuron*. Elsevier Inc., **92**:687–704. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2016.10.024>.
- Foote, A. K. y Blakemore, W. F. (2005). Repopulation of oligodendrocyte progenitor cell-depleted tissue in a model of chronic demyelination. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, **31**:374–383.
- Fuentealba, P. y Steriade, M. (2005). The reticular nucleus revisited: intrinsic and network properties of a thalamic pacemaker. *Progress in Neurobiology*, **75**:125–141.
- Fuenzalida, M., Aliaga, E., Olivares, V., Roncagliolo, M. y Bonansco, C. (2009). Developmental increase of asynchronous glutamate release from hippocampal synapses in mutant *taiep* rat. *Synapse*, **63**:502–509.
- Foundation to fight H-ABC (2022). *What is H-ABC?* Disponible en: <https://www.h-abc.org/habc>.

- Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Sanchez, C. C., José, R., Pantano, S. y Hernandez, V. H. (2020). MRI features in a murine model of H-ABC tubulinopathy. *Frontiers in neuroscience*, **14**:1–12.
- Germé, K., Faure, J. B., Koning, E. y Nehlig, A. (2015). Effect of caffeine and adenosine receptor ligands on the expression of spike-and-wave discharges in genetic absence epilepsy rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsy Research*, **110**:105–114.
- Gibbs, F. A., Gibbs, E. L. y Lennox, W. G. (2002). Epilepsy: A paroxysmal cerebral dysrhythmia. *Epilepsy and Behavior*, **3**:395–401.
- Golshani, P., Liu, X. B. y Jones, E. G. (2001). Differences in quantal amplitude reflect GluR4- subunit number at corticothalamic synapses on two populations of thalamic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**:4172–4177.
- Guillery, R. W., Feig, S. L., Lozsádi, D. a., Lozsadi, D. A. y Lozsádi, D. a. (1998). Paying attention to the thalamic reticular nucleus. *Trends in Neurosciences*, **21**:28–32.
- Gurbanova, A. A., Aker, R., Berkman, K., Onat, F. Y., Van Rijn, C. M. y Van Luijtelaaar, G. (2006). Effect of systemic and intracortical administration of phenytoin in two genetic models of absence epilepsy. *British Journal of Pharmacology*, **148**:1076–1082.
- Halász, P., Terzano, M. G. y Parrino, L. (2002). Spike-wave discharge and the microstructure of sleep-wake continuum in idiopathic generalised epilepsy. *Neurophysiologie Clinique*, **32**:38–53.
- Hanig, J. y Negi, G. (2018). Myelin: Structure, function, pathology, and targeted therapeutics. en *Handbook of Developmental Neurotoxicology*. Elsevier Inc., 33–52.
- Herzog, A. G. y Fowler, K. M. (2005). Sexual hormones and epilepsy: Threat and opportunities. *Current Opinion in Neurology*, **18**:167–172.
- Higashiguchi, T., Serikawa, T., Yamada, T., Kogishi, K., Kondo, A. y Yamada, J. (1991). Semidominant expression of absence-like seizure in tremor rats. *Behavior Genetics*, **21**:537–545.
- Holmes, G. L. (1988). Myoclonic, tonic, and atonic seizures in children: Clinical and electroencephalographic features. *Journal of Epilepsy*, **1**:173–195.
- Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L. y Vega-SaenzdeMiera, E. C. (1989). Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Laboratory Animal Science*, **39**:226–228.
- Horn, A. C. y Buterbaugh, G. G. (1986). Estrogen alters the acquisition of seizures kindled by repeated amygdala stimulation or pentylenetetrazol administration in ovariectomized female rats. *Epilepsia*, **27**:103–108.

Huntsman, M. M. y Huguenard, J. R. (2000). Nucleus-specific differences in GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition are enhanced during thalamic development. *Journal of Neurophysiology*, **83**:350–358.

Huntsman, M. M., Pscello, D. M., Hornanics, G. E., Delorey, T. M. y Huguenard, R. (1999). Reciprocal inhibitory connections and network synchrony in the mammalian thalamus. *Science*, **283**:4–6.

Ibarra-Hernández, J. M. (2018). *Participación del sistema GABAérgico en las crisis de ausencia en ratas taiep macho adultas*. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor. Instituto de Fisiología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, pp. 1–92

Itoh, M., Dai, H., Horike, S. I., Gonzalez, J., Kitami, Y., Meguro-Horike, M., Kuki, I., Shimakawa, S., Yoshinaga, H., Ota, Y., Okazaki, T., Maegaki, Y., Nabatame, S., Okazaki, S., Kawawaki, H., Ueno, N., Goto, Y. I. y Kato, Y. (2019). Biallelic KARS pathogenic variants cause an early-onset progressive leukodystrophy. *Brain*, **142**:560–573.

Jaglin, X. H., Poirier, K., Saillour, Y., Buhler, E., Tian, G., Bahi-Buisson, N., Fallet-Bianco, C., Phan-Dinh-Tuy, F., Kong, X. P., Bomont, P., Castelnau-Ptakhine, L., Odent, S., Loget, P., Kossorotoff, M., Snoeck, I., Plessis, G., Parent, P., Beldjord, C., Cardoso, C., Represa, A., Flint, J., Keays, D. A., Cowan, N. J. y Chelly, J. (2009). Mutations in the B-tubulin gene TUBB2B result in asymmetrical polymicrogyria. *Nature Genetics*, **41**:746–752.

Jaglin, X. H. y Chelly, J. (2009). Tubulin-related cortical dysgeneses: microtubule dysfunction underlying neuronal migration defects. *Trends in Genetics*, **25**:555–566.

Jansen, A. C., Oostra, A., Desprechins, B., De Vlaeminck, Y., Verhelst, H., Régál, L., Verloo, P., Bockaert, N., Keymolen, K., Seneca, S., De Meirleir, L. y Lissens, W. (2011). TUBA1A mutations: From isolated lissencephaly to familial polymicrogyria. *Neurology*, **76**:988–992.

Jocic-Jakubi, B., Martinović, Ž. y Kozić, D. (2007). Epileptic encephalopathy with bilateral continuous spike-waves during slow sleep in a child with vacuolating megalencephalic leukoencephalopathy. *European Journal of Paediatric Neurology*, **11**:181–184.

Kestel, D., Acevedo, C., Tulio Medina, M., Mesa, T. y Rodriguez, J. (2013). *Epilepsia en Latinoamérica*. Unidad de Salud Mental y Uso de Sustancias de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), con el apoyo de la Liga Chilena contra la Epilepsia, la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras, y la Liga Internacional Contra la Epilepsia.

Kitada, K., Akimitsu, T., Shigematsu, Y., Kondo, A., Maihara, T., Yokoi, N., Kuramoto, T., Sasa, M. y Serikawa, T. (2000). Accumulation of N-acetyl-L-aspartate in the brain of the tremor rat, a mutant exhibiting absence-like seizure and spongiform degeneration in the central nervous system. *Journal of*

*Neurochemistry*, **74**:2512–2519.

Klein, J. P., Khera, D. S., Nersesyan, H., Kimchi, E. Y., Waxman, S. G. y Blumenfeld, H. (2004). Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain Research*, **1000**:102–109.

Klioueva, I. a, van Luijtelaar, E. L., Chepurnova, N. E. y Chepurnov, S. a (2001). PTZ-induced seizures in rats: effects of age and strain. *Physiology & Behavior*, **72**:421–426.

van der Knaap, M. S. y Bugiani, M. (2017). Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms. *Acta Neuropathologica*, **134**:351–382.

Van der Knaap, M. S., Naidu, S. B., Pouwels, P. J. W., Bonavita, S., Van Coster, R., Lagae, L., Sperner, J., Surtees, R., Schiffmann, R. y Valk, J. (2002). New syndrome characterized by hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum. *American Journal of Neuroradiology*, **23**:1466–1474.

Kostopoulos, G. K. (2000). Spike-and-wave discharges of absence seizures as a transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis. *Clinical Neurophysiology*, **111**:S27–S38.

Kovács, Z., Czurkó, A., Kékesi, K. A. y Juhász, G. (2010). Clomipramine increases the incidence and duration of spike-wave discharges in freely moving WAG/Rij rats. *Epilepsy Research*, **90**:167–170.

Kovács, Z., Dobolyi, Á., Juhász, G. y Kékesi, K. A. (2014). Lipopolysaccharide induced increase in seizure activity in two animal models of absence epilepsy WAG/Rij and GAERS rats and Long Evans rats. *Brain Research Bulletin*, **104**:7–18.

Krsulovic, J., Couve, E. y Roncagliolo, M. (1999). Dysmyelination, demyelination and reactive astrogliosis in the optic nerve of the *taiep* rat. *Biological Research*, 253–262.

Kuhlo, W. (1970). Petit mal Epilepsie. *Epilepsy. Mod. Probl. Pharmacopsychiat*, **4**:120–138.

Kulhánek, J., Brožová, K., Hansíková, H., Vondráčková, A., Stránecký, V., Šenkyřík, J., Kmoč, S., Zeman, J., Honzík, T. y Tesařová, M. (2019). POLR3B-associated leukodystrophy: clinical, neuroimaging and molecular-genetic analyses in four patients: clinical heterogeneity and novel mutations in POLR3B gene. *Journal of Neurology and Neurosurgery*, **53**:369–376.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**:680–685.

Landisman, C. E., Long, M. A., Beierlein, M., Deans, M. R., Paul, D. L. y Connors, B. W. (2002). Electrical synapses in the thalamic reticular nucleus. *Journal of Neuroscience*, **22**:1002–1009.

- Lason, W., Przewlocka, B., Van Lujtelaar, E. L., Coenen, A. M. y Przewlocki, R. (1992). Endogenous opioid peptides in brain and pituitary of rats with absence epilepsy. *Neuropeptides*, **21**:147–152.
- León-Chávez, B. A., Guevara, J., Galindo, S., Luna, J., Ugarte, A., Villegas, O., Mena, R., Eguibar, J. R. y Martínez-Fong, D. (2001). Regional and temporal progression of reactive astrocytosis in the brain of the myelin mutant *taiep* rat. *Brain Research*, **900**:152–155.
- Letts, V. A., Felix, R., Biddlecome, G. H., Arikath, J., Mahaffey, C. L., Valenzuela, A., Bartlett, F. S., Mori, Y., Campbell, K. P. y Frankel, W. N. (1998). The mouse stargazer gene encodes a neuronal Ca<sup>2+</sup> channel  $\gamma$  subunit. *Nature Genetics*, **19**:340–347.
- Liang, J. S., Lee, S. P., Pulli, B., Chen, J. W., Kao, S. C., Tsang, Y. M. y Hsieh, K. L. C. (2016). Microstructural Changes in Absence Seizure Children: A Diffusion Tensor Magnetic Resonance Imaging Study. *Pediatrics and Neonatology*, **57**:318–325.
- Lin, F. H., Lin, S., Wang, Y. y Hosford, D. A. (1999). Glutamate decarboxylase isoforms in thalamic nuclei in lethargic mouse model of absence seizures. *Molecular Brain Research*, **71**:127–130.
- Liu, L., Zheng, T., Morris, M. J., Wallengren, C., Clarke, A. L., Reid, C. a., Petrou, S. y O'Brien, T. J. (2006). The mechanism of carbamazepine aggravation of absence seizures. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **319**:790–798.
- Lopez-Juarez, A., Gonzalez-Vega, A., Kleinert-Altamirano, A., Piazza, V., Garduno-Robles, A., Alata, M., Villaseñor-Mora, C., Eguibar, J. R., Cortes, C., Padierna, L. C. y Hernandez, V. H. (2020). Auditory impairment in H-ABC tubulinopathy. *Journal of Comparative Neurology*, **529**:957–968.
- Lüders, H., Lesser, R. P., Dinner, D. S. y Morris, H. H. (2013). Generalized epilepsies: a review. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, **51**:205–226.
- Lunn, K F, Baas, P. W. y Duncan, I. D. (1997). Microtubule organization and stability in the oligodendrocyte. *The Journal of Neuroscience*, **17**:4921–4932.
- Lunn, K. F., Clayton, M. K. y Duncan, I. D. (1997). The temporal progression of the myelination defect in the *taiep* rat. *Journal of Neurocytology*, **26**:267–281.
- Lüttjohann, A., Schoffelen, J. M. y van Lujtelaar, G. (2014). Termination of ongoing spike-wave discharges investigated by cortico-thalamic network analyses. *Neurobiology of Disease*. Elsevier Inc., **70**:127–137.
- Ma, J., Lin, C., Wen, C., Xiang, Z., Yang, X. y Wang, X. (2014). Determination of bicuculline in rat plasma by liquid chromatography mass spectrometry and its application in a pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. Elsevier B.V., **953–954**:143–146.

- Macdonald, R. L., Gallagher, M. J., Feng, H. J. y Kang, J. (2004). GABA<sub>A</sub> receptor epilepsy mutations. *Biochemical Pharmacology*, **68**:1497–1506.
- Macdonald, R. L., Kang, J. Q. y Gallagher, M. J. (2010). Mutations in GABA<sub>A</sub> receptor subunits associated with genetic epilepsies. *Journal of Physiology London*, **588**:1861–1869.
- Macphee, G. J. A., Larkin, J. G., Butler, E., Beastall, G. H. y Brodie, M. J. (1988). Circulating hormones and pituitary responsiveness in young epileptic men receiving long-term antiepileptic medication. *Epilepsia*, **29**:468–475.
- Majewska, M. D., Harrison, N. L., Schwartz, R. D., Barker, J. L. y Paul, S. M. (1985). Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science*, **232**:1004–1007.
- Marcus, E. M. y Watson, W. (1968). Symmetrical epileptogenic foci in monkey cerebral cortex. *Archives of Neurology*, **19**:99–116.
- Marcus, E. y Watson, C. (1966). Synchronous spike wave electrographic patterns in the cat. *Archives of Neurology*, **14**:601–610.
- Marescaux, C. y Vergnes, M. (1995). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg (GAERS). *The Italian Journal of Neurological Sciences*, **16**:113–118.
- Martin, J. H. (2013). Organización estructural y funcional del sistema nervioso central. en *Neuroanatomía texto y atlas*. 4ª ed. McGraw-Hill Interamericana de España S.L., 75–113.
- Martin, R. L., Lee, J. H., Cribbs, L. L., Perez-Reyes, E. y Hanck, D. a (2000). Mibefradil block of cloned T-type calcium channels. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **295**:302–308.
- McCarthy, M. M., Auger, A. P. y Perrot-Sinal, T. S. (2002). Getting excited about GABA and sex differences in the brain. *Trends in Neurosciences*, **25**:307–312.
- McEwen, B. S. (1992). Steroid hormones: Effect on brain development and function. *Hormone Research*, **37**:1–10.
- McNamara, J. (2007). Farmacoterapia de las epilepsias. en *Las bases farmacológicas de la terapéutica de Goodman & Gilman*. 11ª ed por Brunton, L. L., Lazo, J. S., y Parker, K. L. Mc Graw Hill, pp. 501–525.
- Meera, P., Wallner, M. y Otis, T. S. (2011). Molecular basis for the high THIP/gaboxadol sensitivity of extrasynaptic GABA<sub>A</sub> receptors. *Journal of Neurophysiology*, **106**:2057–2064.
- Meeren, H., van Luijelaar, G., Lopes da Silva, F. y Coenen, A. (2005). Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures. *Archives of Neurology*, **62**:371.
- Mishra, S. K. y Hermsmeyer, K. (1994). Selective inhibition of T-type Ca<sup>2+</sup> channels by Ro 40-5967. *Circulation Research*, **75**:144–148.

- Möller, J. R., Durr, P. G., Quarles, R. H. y Duncan, I. D. (1997). Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the *taiep* rat. *Journal of Neurochemistry*, **69**:773–779.
- Monteiro, M. R., Kandravicius, L. y Leite, J. P. (2011). O papel das proteínas do citoesqueleto na fisiologia celular normal e em condições patológicas. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, **17**:17–23.
- Nakamura, Y., Ono, H. y Frohlich, E. D. (1999). Differential effects of T- and L-type calcium antagonists on glomerular dynamics in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, **34**:273–278.
- Noebels, J. L. (1979). Analysis of inherited epilepsy using single locus mutations in mice. *Federation proceedings*, **38**:2405–2410.
- Noebels, J. L. (1984). A single gene error of noradrenergic axon growth synchronizes central neurons. *Nature*, **310**:409–411.
- Nugent, B. M., Wright, C. L., Shetty, A. C., Hodes, G. E., Lenz, K. M., Mahurkar, A., Russo, S. J., Devine, S. E. y McCarthy, M. M. (2015). Brain feminization requires active repression of masculinization via DNA methylation. *Nature Neuroscience*. Nature Publishing Group, **18**:690–697.
- Oegema, R., Cushion, T. D., Phelps, I. G., Chung, S. K., Dempsey, J. C., Collins, S., Mullins, J. G. L., Dudding, T., Gill, H., Green, A. J., Dobyns, W. B., Ishak, G. E., Rees, M. I. y Doherty, D. (2015). Recognizable cerebellar dysplasia associated with mutations in multiple tubulin genes. *Human Molecular Genetics*, **24**:1–38.
- Organizacion Mundial de la Salud (2019). *Epilepsia*. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>.
- Panayiotopoulos, C. P. (2001). Treatment of typical absence seizures and related epileptic syndromes. *Paediatric Drugs*, **3**:379–403.
- De Paoli, P., Cerbai, E., Koidl, B., Kirchengast, M., Sartiani, L. y Mugelli, A. (2002). Selectivity of different calcium antagonists on T- and L-type calcium currents in guinea-pig ventricular myocytes. *Pharmacological Research*, **46**:491–497.
- Parrini, E., Conti, V., Dobyns, W. B. y Guerrini, R. (2016). Genetic basis of brain malformations. *Molecular Syndromology*, **7**:220–233.
- Pellegrini, A., Musgrave, J. y Gloor, P. (1979). Role of afferent input of subcortical origin in the genesis of bilaterally synchronous epileptic discharges of feline generalized penicillin epilepsy. *Experimental Neurology*, **173**:155–173.
- Pirttimaki, T., Parri, H. R. y Crunelli, V. (2013). Astrocytic GABA transporter GAT-1 dysfunction in experimental absence seizures. *Journal of Physiology London*, **591**:823–833.
- Pizzino, A., Pierson, T. M., Guo, Y., Helman, G., Fortini, S., Guerrero, K., Saitta, S., Murphy, J. L. P., Padiath, Q., Xie, Y., Hakonarson, H., Xu, X., Funari, T., Fox, M., Taft, R. J., Van Der Knaap, M. S., Bernard, G., Schiffmann, R., Simons, C. y

- Vanderver, A. (2014). TUBB4A de novo mutations cause isolated hypomyelination. *Neurology*, **83**:898–902.
- Poirier, K., Saillour, Y., Bahi-Buisson, N., Jaglin, X. H., Fallet-Bianco, C., Nabbout, R., Castelnau-Ptakhine, L., Roubertie, A., Attie-Bitach, T., Desguerre, I., Genevieve, D., Barnerias, C., Keren, B., Lebrun, N., Boddaert, N., Encha-Razavi, F. y Chelly, J. (2010). Mutations in the neuronal  $\beta$ -tubulin subunit TUBB3 result in malformation of cortical development and neuronal migration defects. *Human Molecular Genetics*, **19**:4462–4473.
- Polack, P. O., Guillemain, I., Hu, E., Deransart, C., Depaulis, A. y Charpier, S. (2007). Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *Journal of Neuroscience*, **27**:6590–6599.
- Polenzani, L., Woodward, R. M. y Miledi, R. (1991). Expression of mammalian gamma-aminobutyric acid receptors with distinct pharmacology in *Xenopus* oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **88**:4318–4322.
- Posner, E. (2013). Absence seizures in children. *Clinical Evidence*, **12**:1–15.
- Prescott, T., Mitchinson, B. y Grant, R. (2011). Vibrissal behavior and function. *Scholarpedia*, **6**:6642.
- Reddy, D. S. (2004). Testosterone modulation of seizure susceptibility is mediated by neurosteroids  $3\alpha$ -androstenediol and  $17\beta$ -estradiol. *Neuroscience*, **129**:195–207.
- Richards, D. A., Manning, J. P. A., Barnes, D., Rombola, L., Bowery, N. G., Caccia, S., Leresche, N. y Crunelli, V. (2003). Targeting thalamic nuclei is not sufficient for the full anti-absence action of ethosuximide in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Research*, **54**:97–107.
- Romaniello, R., Tonelli, A., Arrigoni, F., Baschiroto, C., Triulzi, F., Bresolin, N., Bassi, M. T. y Borgatti, R. (2012). A novel mutation in the  $\beta$ -tubulin gene TUBB2B associated with complex malformation of cortical development and deficits in axonal guidance. *Developmental Medicine and Child Neurology*, **54**:765–769.
- Romaniello, R., Arrigoni, F., Fry, A. E., Bassi, M. T., Rees, M. I., Borgatti, R., Pilz, D. T. y Cushion, T. D. (2018). Tubulin genes and malformations of cortical development. *European Journal of Medical Genetics*, **61**:744–754.
- Roncagliolo, M., Benítez, J. y Eguibar, J. R. (2000). Progressive deterioration of central components of auditory brainstem responses during postnatal development of the myelin mutant *taiep* rat. *Audiology and Neuro-Otology*, **5**:267–275.
- Roncagliolo, M., Schlageter, C., León, C., Couve, E., Bonansco, C. y Eguibar, J. R. (2006). Developmental impairment of compound action potential in the optic nerve of myelin mutant *taiep* rats. *Brain Research*, **1067**:78–84.
- Russo, E., Citraro, R., Scicchitano, F., Urzino, A., Marra, R., Rispoli, V. y De Sarro,

- G. (2011). Vigabatrin has antiepileptogenic and antidepressant effects in an animal model of epilepsy and depression comorbidity. *Behavioural Brain Research*, **225**:373–376.
- Sadleir, L. G., Scheffer, I. E., Smith, S., Connolly, M. B. y Farrell, K. (2009). Automatism in absence seizures in children with idiopathic generalized epilepsy. *Archives of Neurology*, **66**:729–734.
- Samotaeva, I. S., Birioukova, L. M., Midzyanovskaya, I. S., Kuznetsova, G. D., Bazyan, A. S. y Tuomisto, L. (2012). Metoprine induced behavioral modifications and brain regional histamine increase in WAG/Rij and Wistar rats. *Epilepsy Research*, **101**:148–156.
- San, T., Sirvanci, S., Midillioglu, S., Canillioglu, Y., Yildiz, S. D., Akakin, D. y Onat, F. (2011). Glutamic acid decarboxylase immunoreactivity in the mossy fiber terminals of the hippocampus of genetic absence epileptic rats. *Turkish Neurosurgery*, **21**:499–503.
- Santavuori, P. (1983). Absence seizures: valproate or ethosuximide? *Acta Neurologica Scandinavica*, **68**:41–48.
- Sarkisian, M. R. (2001). Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. *Epilepsy and Behavior*, **2**:201–216.
- Sarkisova, K. (2011). Behavioral characteristics of female Wag/Rij rats. *Zhurnal Vysshei Nervnoi Deiatelnosti Imeni I P Pavlova*, **61**:624–630.
- Sase, S., Almad, A. A., Alexander Boecker, C., Guedes-Dias, P., Li, J. J., Takanohashi, A., Patel, A., McCaffrey, T., Patel, H., Sirdeshpande, D., Curiel, J., Liu, J. S. H., Padiath, Q., Holzbaur, E. L. F., Scherer, S. S. y Vanderver, A. (2020). Tubb4a mutations result in both glial and neuronal degeneration in an H-ABC leukodystrophy mouse model. *Journal eLife Sciences*, **9**:1–28.
- Scharfman, H. E. y MacLusky, N. J. (2006). The influence of gonadal hormones on neuronal excitability, seizures, and epilepsy in the female. *Epilepsia*, **47**:1423–1440.
- Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H. y Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE commission for classification and terminology. *Epilepsia*, **58**:512–521.
- Schultz, B., Aaes-Jørgensen, T., Bøgesø, K. P. y Jørgensen, A. (1981). Preliminary studies on the absorption, distribution, metabolism, and excretion of THIP in animal and man using <sup>14</sup>C-labelled compound. *Acta Pharmacologica and Toxicologica*, **49**:116–124.
- Schwartz-Giblin, S., Korotzer, A. y Pfaff, D. W. (1989). Steroid hormone effects on picrotoxin-induced seizures in female and male rats. *Brain Research*, **476**:240–247.

Segan, S. (2018). *Absence seizures*. *Medscape*. Disponible en: <https://reference.medscape.com/article/1183858-overview?reg=1#a3>.

Segovia, S., Guillamón, A., Del Cerro, M. C. R., Ortega, E., Pérez-Laso, C., Rodríguez-Zafra, M. y Beyer, C. (1999). The development of brain sex differences: A multisignaling process. *Behavioural Brain Research*, **105**:69–80.

Semba, K. y Komisaruk, B. R. (1984). Neural substrates of two different rhythmical vibrissal movements in the rat. *Neuroscience*, **12**:761–774.

Seo, S. y Leitch, B. (2014). Altered thalamic GABA<sub>A</sub>-receptor subunit expression in the stargazer mouse model of absence epilepsy. *Epilepsia*, **55**:224–232.

Serikawa, T., Mashimo, T., Kuramoto, T., Voigt, B., Ohno, Y. y Sasa, M. (2015). Advances on genetic rat models of epilepsy. *Experimental Animals*, **64**:1–7.

Serikawa, T., Ohno, Y., Sasa, M. y Takaori, S. (1987). A new model of petit mal epilepsy: Spontaneous spike and wave discharges in tremor rats. *Laboratory Animals*, **21**:68–71.

Serikawa, T., Yamada, J., Ujihara, H., Ohno, Y., Sasa, M. y Takaori, S. (1991). Ontogeny of absence-like and tonic seizures in the spontaneously epileptic rat. *Laboratory Animals*, **25**:216–221.

Shaw, F. Z. y Liao, Y. F. (2005). Relation between activities of the cortex and vibrissae muscles during high-voltage rhythmic spike discharges in rats. *Journal of Neurophysiology*, **93**:2435–2448.

Sitnikova, E., Dikanev, T., Smirnov, D., Bezruchko, B. y van Luijtelaar, G. (2008). Granger causality: Cortico-thalamic interdependencies during absence seizures in WAG/Rij rats. *Journal of Neuroscience Methods*, **170**:245–254.

Sitnikova, E. y van Luijtelaar, G. (2009). Electroencephalographic precursors of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy: power spectrum and coherence EEG analyses. *Epilepsy Research*, **84**:159–171.

Sitnikova, E. y Luijtelaar, G. Van (2005). Reduction of adrenergic neurotransmission with clonidine aggravates spike-wave seizures and alters activity in the cortex and the thalamus in WAG/Rij rats. *Brain Research Bulletin*, **64**:533–540.

Sitnikova, E. y Van Luijtelaar, G. (2007). Electroencephalographic characterization of spike-wave discharges in cortex and thalamus in WAG/Rij rats. *Epilepsia*, **48**:2296–2311.

Smyk, M. K., Sysoev, I. V., Sysoeva, M. V., van Luijtelaar, G. y Drinkenburg, W. H. (2019). Can absence seizures be predicted by vigilance states?: Advanced analysis of sleep-wake states and spike-wave discharges' occurrence in rats. *Epilepsy and Behavior*, **96**:200–209.

Smyk, M. K. y van Luijtelaar, G. (2020). Circadian rhythms and epilepsy: A suitable case for absence epilepsy. *Frontiers in Neurology*, **11**:1–13.

Spreafico, R., Mennini, T., Danober, L., Cagnotto, A., Regondi, M. C., Miari, A., De Blas, A., Vergnes, M. y Avanzini, G. (1993). GABA<sub>A</sub> receptor impairment in the genetic absence epilepsy rats from Strasbourg (GAERS): an immunocytochemical and receptor binding autoradiographic study. *Epilepsy Research*, **15**:229–238.

Steriade, M., Domich, L., Oakson, G. y Deschenes, M. (1987). The deafferented reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *Journal of Neurophysiology*, **57**:260–273.

Sysoeva, M. V., Lüttjohann, A., van Luijtelaar, G. y Sysoev, I. V. (2016). Dynamics of directional coupling underlying spike-wave discharges. *Neuroscience*, **314**:75–89.

Talley, E. M., Solórzano, G., Depaulis, A., Perez-Reyes, E. y Bayliss, D. A. (2000). Low-voltage-activated calcium channel subunit expression in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Molecular Brain Research*, **75**:159–165.

Timofeev, I., Bazhenov, M., Sejnowski, T. J. y Steriade, M. (2001). Contribution of intrinsic and synaptic factors in the desynchronization of thalamic oscillatory activity. *Thalamus and Related Systems*, **1**:53–69.

Timofeev, I. y Steriade, M. (2004). Neocortical seizures: Initiation, development and cessation. *Neuroscience*, **123**:299–336.

Tolmacheva, E. A., Chepurinov, S. A., Chepurnova, N. E., Kochetkov, Y. A. y Van Luijtelaar, G. (2004). Absence seizures during pregnancy in WAG/Rij rats. *Physiology and Behavior*, **81**:623–627.

Tolmacheva, E. A., Oitzl, M. S. y van Luijtelaar, G. (2012). Stress, glucocorticoids and absences in a genetic epilepsy model. *Hormones and Behavior*, **61**:706–710.

Tonduti, D., Aiello, C., Renaldo, F., Dorboz, I., Saaman, S., Rodriguez, D., Fettah, H., Elmaleh, M., Biancheri, R., Barresi, S., Boccone, L., Orcesi, S., Pichiecchio, A., Zangaglia, R., Maurey, H., Rossi, A., Boespflug-Tanguy, O. y Bertini, E. (2016). TUBB4A-related hypomyelinating leukodystrophy: New insights from a series of 12 patients. *European Journal of Paediatric Neurology*, **20**:323–330.

Tononi, G. (2005). Neuronal substrates of sleep and epilepsy. *Neuroscience*, **1199**.

Tringham, E., Powell, K. L., Cain, S. M., Kuplast, K., Mezeyova, J., Weerapura, M., Eduljee, C., Jiang, X., Smith, P., Morrison, J. L., Jones, N. C., Braine, E., Rind, G., Fee-Maki, M., Parker, D., Pajouhesh, H., Parmar, M., O'Brien, T. J. y Snutch, T. P. (2012). T-type calcium channel blockers that attenuate thalamic burst firing and suppress absence seizures. *Science Translational Medicine*, **4**:1–14.

Valdivia, I., Aguilar, L. y Caraballo, M. (2007). Epilepsia de ausencia de inicio precoz: a propósito de un caso. *Revista Cubana Pediatría*, **79**:1–8.

van Luijtelaar, E. L. J. M. y Coenen, A. M. L. (1986). Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neuroscience Letters*, **70**:393–397.

van Luijtelaar, E. L. J. M. y Coenen, A. M. L. (1988). Circadian rhythmicity in

- absence epilepsy in rats. *Epilepsy Research*, **2**:331–336.
- van Luijtelaar, E. L. J. M., Dirksen, R., Vree, T. B. y Van Haaren, F. (1996). Effects of acute and chronic cocaine administration on EEG and behaviour in intact and castrated male and intact and ovariectomized female rats. *Brain Research Bulletin*, **40**:43–50.
- van Luijtelaar, G., Budziszewska, B., Jaworska-Feil, L., Ellis, J., Coenen, A. y Lasoń, W. (2001). The ovarian hormones and absence epilepsy: a long-term EEG study and pharmacological effects in a genetic absence epilepsy model. *Epilepsy Research*, **46**:225–239.
- van Luijtelaar, G., Onat, F. Y. y Gallagher, M. J. (2014). Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter? *Neurobiology of Disease*. Elsevier Inc., **72**:167–179.
- van Luijtelaar, G., Sitnikova, E. y Lüttjohann, A. (2011). On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. *Clinical EEG and Neuroscience*, **45**:83–97.
- van Luijtelaar, G., Yilmaz Onat, F. y Gallagher, M. (2015). Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter? *Neurobiology Disease*, **25**:713–724.
- van Luijtelaar, G. y Zobeiri, M. (2014). Progress and outlooks in a genetic absence epilepsy model (WAG/Rij). *Current Medicinal Chemistry*, **21**:704–721.
- Velíšková, J. (2006). The role of estrogens in seizures and epilepsy: The bad guys or the good guys? *Neuroscience*, **138**:837–844.
- Vergens, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Depaulis, A., Rumbach, L. y Warter, J. M. (1984). Enhancement of spike and wave discharges by GABA<sub>A</sub> mimetic drugs in rats with spontaneous petit-mallike epilepsy. *Neuroscience Letters*, **44**:91–94.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L. y Warter, J. M. (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neuroscience Letters*, **33**:97–101.
- Wallace, R. H., Marini, C., Petrou, S., Harkin, L. A., Bowser, D. N., Panchal, R. G., Williams, D. A., Sutherland, G. R., Mulley, J. C., Scheffer, I. E. y Berkovic, S. F. (2001). Mutant GABA<sub>A</sub> receptor  $\gamma$ 2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nature Genetics*, **28**:49–52.
- Wallengren, C., Li, S., Morris, M. J., Jupp, B. y O'Brien, T. J. (2005). Aggravation of absence seizures by carbamazepine in a genetic rat model does not induce neuronal c-Fos activation. *Clinical Neuropharmacology*, **28**:60–65.
- Weir, B. (1965). The morphology of the spike-wave complex. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, **19**:284–290.
- Yalçinkaya, C., Yüksel, A., Comu, S., Kiliç, G., Cokar, O. y Dervent, A. (2003). Epilepsy in vacuolating megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical

cysts. *Seizure*, 388–396.

Yananli, H. R., Terzioğlu, B., Goren, M. Z., Aker, R. G., Aypak, C. y Onat, F. Y. (2008). Extracellular hypothalamic gamma-aminobutyric acid (GABA) and L-glutamic acid concentrations in response to bicuculline in a genetic absence epilepsy rat model. *Journal of pharmacological sciences*, **106**:301–309.

Zhang, J., Ban, T., Zhou, L., Ji, H., Yan, H., Shi, Z., Cao, B., Jiang, Y., Wang, J. y Wu, Y. (2020). Epilepsy in children with leukodystrophies. *Journal of Neurology*, **267**:2612–2618.

Zheng, T., Clarke, A. L., Morris, M. J., Reid, C. A., Petrou, S. y O'Brien, T. J. (2009). Oxcarbazepine, not its active metabolite, potentiates GABA<sub>A</sub> activation and aggravates absence seizures. *Epilepsia*, **50**:83–87.