



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“EFECTO DEL ÁCIDO VALPROICO EN LAS CRISIS DE
AUSENCIA DE LA MUTANTE DE MIELINA *TAIEP*”**

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

Presenta:

RUBÉN CASTILLO LAZCANO

Directores: **DRA. MA. DEL CARMEN CORTÉS SÁNCHEZ**

Asesores: **DRA. ANGÉLICA TRUJILLO HERNÁNDEZ**

DRA. ROSALINA MARÍA DE LOURDES REYES LUNA



Puebla de Zaragoza, Puebla a lunes, 10 de diciembre de 2018

“Los hombres creen que la epilepsia es divina, meramente porque no la pueden entender. Pero si llamasen divino a todo aquello que no pueden entender, habría una infinidad de cosas divinas.”

Hipócrates

“Soy un cerebro Watson. El resto de mi es puro apéndice.”

Sir Arthur Donan Coyle

Parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) que a través de los proyectos 243,333 y 243,247 a favor de la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez y Dr. José Ramón Eguibar Cuenca, respectivamente, me permitieron realizar mi trabajo de tesis.

Parcialmente financiado por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Subsecretaría de Educación Superior–Secretaría de Educación Pública (SESSEP) para el cuerpo académico en Neuroendocrinología, BUAP-CA-288.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez y al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca por permitir la realización de mi proyecto de tesis en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología, por depositar su confianza en mí, por sus enseñanzas, por su pasión y dedicación para mi formación en el ámbito científico, pero sobre todo el humano.

A mis padres Idalid Lazcano y Wuilbert Castillo por creer en mi cuando decidí lo que quería estudiar, por su eterno apoyo y amor. A mis hermanos Daniel y Mauricio, a mis amigos Alan, Diego, Xavi, Kary y May por el apoyo y los buenos momentos.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor: Adriela, Ángeles, Lily, Paty, Carlos, Alfredo, Karely, Estefanía, Nagib, Eduardo, Ana, Juan Carlos, Ángeles Carrasco, Adriana y Alfonso por su apoyo, conocimiento y risas durante mi estancia en el laboratorio. A la M. en C. Araceli Ugarte y a Juan Ibarra por su ayuda, tolerancia y apoyo en todos los procesos experimentales realizados en este trabajo. Al M.V.Z. Omar Isidro por el cuidado y mantenimiento de los animales del laboratorio.

Finalmente agradezco al jurado de mi examen: Dra. Angélica Trujillo Hernández y a la Dra. Rosalina María de Lourdes Reyes Luna por las observaciones y contribuciones realizadas a la tesis y mi formación en esta área de investigación.

ÍNDICE

1. GLOSARIO	1
2. RESUMEN	2
3. INTRODUCCIÓN	4
3.1 EPIDEMIOLOGÍA Y PREVALENCIA DE LA EPILEPSIA.....	4
3.2 DEFINICIÓN DE EPILEPSIA.	4
3.3 CLASIFICACIÓN.....	5
3.4 FISIOPATOLOGÍA DE LAS CRISIS DE AUSENCIA	6
3.5 FÁRMACOS PARA EL CONTROL DE LAS CRISIS DE AUSENCIA.	8
3.6 MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE LAS CRISIS DE AUSENCIA.....	13
4. ANTECEDENTES.....	18
5. JUSTIFICACIÓN	20
6. HIPÓTESIS	21
7.1 OBJETIVO GENERAL	22
7.2 OBJETIVOS PARTICULARES	22
8. MATERIAL Y MÉTODOS	23
8.1 SUJETOS EXPERIMENTALES.....	23
8.2 FÁRMACO	24
8.3 CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA	24
8.5 HABITUACIÓN PRE-REGISTRO	26
8.6 REGISTRO ELECTROENCEFALOGRÁFICO (EEG)	26
8.7 CRITERIOS DE IDENTIFICACIÓN DE LAS DESCARGAS ESPIGA-ONDA.....	26
8.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	27
9. RESULTADOS	28
9.1 EFECTO DEL ÁCIDO VALPROICO EN LA FRECUENCIA, LA DURACIÓN Y LA LATENCIA DE LAS CRISIS DE AUSENCIA.....	28
9.2 EFECTO DEL ÁCIDO VALPROICO EN LAS CRISIS DE AUSENCIA EN LAS FASES DE LUZ-OSCURIDAD.....	32
10. DISCUSIÓN	35
11. CONCLUSIONES	40
12. BIBLIOGRAFÍA	41

1. GLOSARIO

Cx	Corteza cerebral
DEO	Descarga espiga-onda
EEG	Electroencefalograma
EMG	Electromiograma
EOG	Electrooculograma
ETX	Etosuximida
FAE	Fármacos antiepilépticos
GABA	Acido γ -aminobutírico
GABAa	GABA tipo a
GABA-T	GABA transaminasa
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg
GAM	Glicoproteína asociada a la mielina
HP	Hipocampo
i.p.	Intraperitoneal
ILAE	International League Against Epilepsy
MOR	Movimientos oculares rápidos
PBM	Proteína básica de la mielina
PPL	Proteína proteolipídica
PTZ	Pentilenetetrazol
SNpr	Sustancia nigra <i>pars reticulata</i>
SOL	Sueño de ondas lentas
SSA	Succínico semialdehído
SSADH	Succinato semialdehído deshidrogenasa

2. RESUMEN

La epilepsia es uno de los principales trastornos neurológicos en el ser humano, caracterizada por actividad neuronal excesiva y sincrónica en el cerebro, en México se calcula que existen 2 millones de personas que la padecen, las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia generalizada que afecta entre un 2% a un 10% de la población con epilepsia y se caracteriza por la pérdida de la conciencia con descargas corticales espigonda con una frecuencia predominante de 2.5 a 4 Hz durante los registros electroencefalográficos. Se ha observado que este tipo de descargas se encuentran presentes en la rata *taiep* un mutante de mielina con el que contamos en el laboratorio de Neurofisiología y Control Motor.

La rata *taiep* debe su nombre al acrónimo de los signos neurológicos que la caracterizan: (t) temblor, (a) ataxia, (i) inmovilidad, (e) epilepsia y p (parálisis), ha sido descrita como un modelo animal para el estudio de las crisis de ausencia debido a que presenta descargas corticales en el electroencefalograma (EEG) similares a las de las crisis de ausencia. El ácido valproico es un fármaco de primera elección para el tratamiento de las crisis de ausencia, el cual actúa mediante el aumento de las concentraciones del neurotransmisor inhibitorio ácido gamma-aminobutírico (GABA) por medio del bloqueó de las enzimas implicadas en su metabolismo.

El objetivo del presente trabajo fue el de analizar el efecto del ácido valproico en las crisis de ausencia en la rata *taiep* macho de nueve meses de edad.

Se realizaron estudios electroencefalográficos a ratas *taiep* macho de 9 meses de edad las cuales fueron implantadas con electrodos para registro electroencefalográfico mediante cirugía estereotáxica. Posteriormente se realizaron dos registros electroencefalográficos de 24h acoplados a videograbación; uno control y otros con la administración de ácido valproico a las dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg de manera independiente para cada dosis. Se evaluó la frecuencia y la duración de cada crisis, además de la latencia al primer evento de crisis de ausencia durante todos los registros.

Se consideró una diferencia significativa cuando probabilidad fue de 0.05 o menor.

La administración del ácido valproico a la dosis de 150 mg/Kg disminuyó de manera significativa la duración de las crisis de ausencia a las 11:00, alcanzando una reducción del 20%, sin obtenerse resultados significativos en cuanto a la frecuencia y la latencia a la primera crisis de ausencia. Después de la administración de la dosis de 300 mg/Kg se obtuvo una disminución significativa en la frecuencia de las crisis de ausencia durante cuatro horas con un decremento máximo de un 42% a las 17:00, adicionalmente en la duración también se encontraron obtuvieron diferencias significativas durante cuatro horas con un decremento máximo del 25% a las 15:00 h. La latencia al primer evento de crisis de ausencia obtuvo resultados significativos con un aumento de hasta un 420% con respecto al grupo control. Por último, tras la administración 600 mg/Kg se obtuvieron resultados significativos disminuyendo la frecuencia de las crisis de ausencia durante siete horas, con un decremento máximo del 51% a las 21:00h; en la duración también se obtuvieron diferencias significativas durante seis horas con una disminución máxima de un 66% a las 11:00. La latencia al primer evento de crisis de ausencia obtuvo resultados significativos con un aumento de hasta un 550% con respecto al grupo control.

Finalmente se concluye que las crisis de ausencia de la rata mutante de mielina *taiep* disminuyeron en su frecuencia, duración y latencia con la administración del ácido valproico de manera dosis-dependiente. Observándose un perfil farmacológico similar a lo reportado en humanos y en la rata Wistar Albino Glaxo/Rijswijk (WAG/Rij), el modelo animal más empleado para el estudio de la epilepsia generalizada del tipo crisis de ausencia.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 Epidemiología y prevalencia de la epilepsia

La epilepsia es uno de los principales trastornos neurológicos en el ser humano. La Organización Mundial de la salud (OMS) reporta que este padecimiento afecta aproximadamente a 50 millones de personas en el mundo, sin distinción de edad y sexo, de los cuales solo el 70% responden a un solo tratamiento farmacológico (Acevedo., 2008). El 80% de las personas con epilepsia son de países con ingresos bajos y medianos, probablemente debido a las malas condiciones de parto que suelen provocar lesiones cerebrales (Cruz-Cruz y cols., 2017). En México se calcula que existen alrededor de 2 millones de personas que padecen epilepsia, de los cuales el 75% son niños y jóvenes no mayores a los 20 años (Garcia-Pedroza y cols., 2010). Según cifras del Programa Prioritario de Epilepsia en México (PPE) se estima que los casos nuevos anuales ascienden entre 15 a 20/1,000 habitantes los cuales generan un gasto económico de más de 60,000 pesos al año por cada paciente.

Las crisis de ausencia se presentan en alrededor de 2-10% de los afectados por epilepsia, con una prevalencia de 9/100,000 personas. Su inicio es en la infancia, con un pico de manifestación clínica entre los 6 y 7 años (Crunelli y Leresche, 2002).

3.2 Definición de epilepsia.

La epilepsia es definida como un trastorno cerebral caracterizado por la actividad neuronal excesiva y sincrónica del cerebro, provocando crisis recurrentes, dichas crisis son comúnmente llamadas crisis epilépticas (Fisher y cols ., 2005).

3.3 Clasificación.

Las crisis epilépticas se han clasificado de diversas maneras; de acuerdo con su etiología, sitio de origen, signos clínicos (generalizadas o focales) y frecuencia (aisladas, cíclicas, prolongadas o repetitivas). La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE de sus siglas en inglés), es un organismo internacional que se encarga de brindar un marco normativo para la clasificación de la epilepsia, ha propuesto una clasificación la cual fue actualizada en el año 2017, basada en la forma clínica de la crisis, en aspectos electroencefalográficos comunes y en el sustrato anatómico que la sustentan (Figura 1).

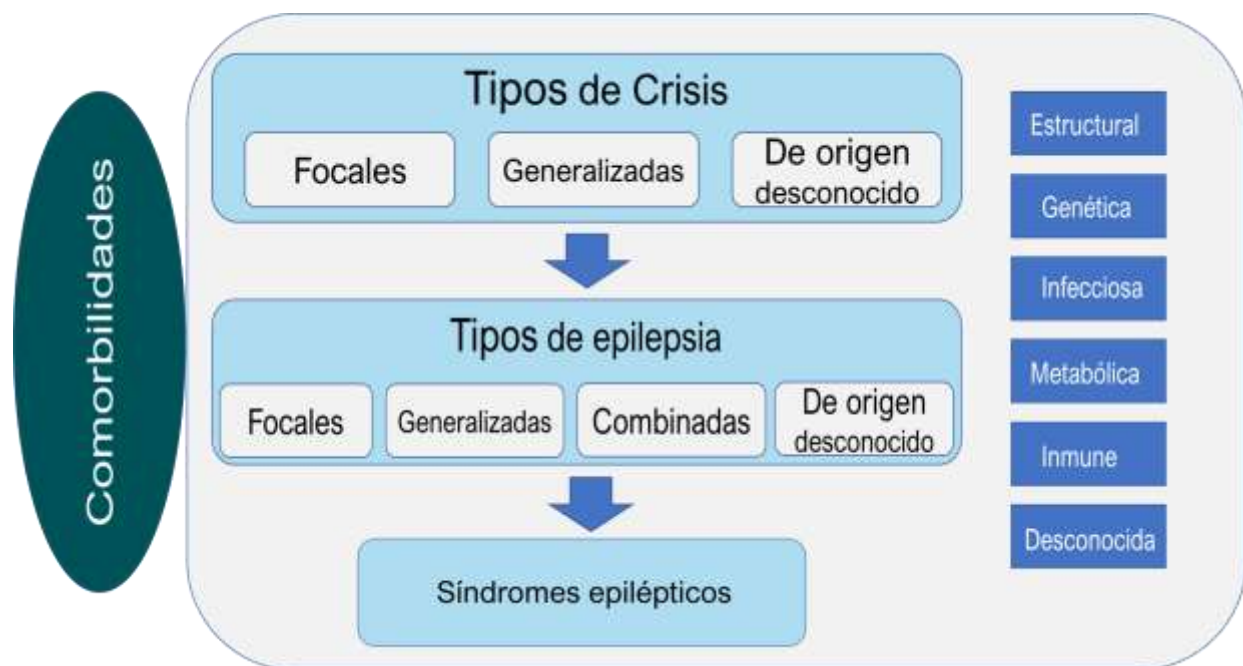


Figura 1. Clasificación internacional de la epilepsia en base a lo propuesto por la ILAE en 2017. Se divide a la epilepsia en tres niveles para facilitar su diagnóstico. En el primer nivel se encuentran los tipos de crisis, en el segundo nivel los tipos de epilepsia y en el tercer nivel se encuentran los síndromes epilépticos. Además sugiere las etiologías más comunes (Modificado de Fisher y cols., 2017).

Esta clasificación divide a la epilepsia en tres niveles; tipo de crisis, tipo de epilepsia y síndromes epilépticos, para facilitar su diagnóstico (Fisher y cols., 2017). La epilepsia de tipo generalizada se divide en crisis motoras y no motoras, adicionalmente las crisis motoras se clasificaron en varios tipos de acuerdo con el tipo de movimiento que

presentan. Las crisis de ausencia se engloban dentro de las no motoras, a su vez se clasifican en: ausencias típicas, ausencias atípicas, ausencias mioclónicas y mioclonías del párpado. Las crisis de ausencia típicas poseen como rasgo distintivo, las descargas que son de tipo espiga-onda con una frecuencia de 2.5 a 4 Hz, presentes en el electroencefalograma (Figura 2). También se caracterizan por repentinos periodos de pérdida de la consciencia, sin que se altere la estabilidad corporal, que pueden o no ir acompañados de síntomas motores como fasciculaciones, mioclonías o síntomas autónomos como sudoración, salivación y palpitaciones. Conductualmente algunos pacientes permanecen con la mirada fija y dejan de responder a los estímulos ambientales (Fisher y cols ., 2017).

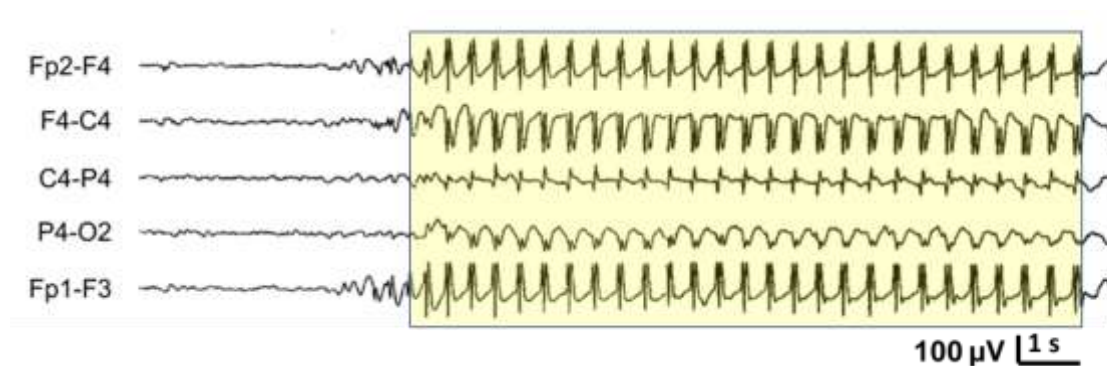


Figura 2. Patrón característico de descargas espiga-onda durante una crisis de ausencia en humano. Registro electroencefalográfico de un niño de 8 años. Véase el patrón característico de espiga onda señalado en color amarillo. (Modificado de Panayiotopoulos, 2001)

3.4 Fisiopatología de las crisis de ausencia

Es importante comprender que las crisis de ausencia tienen un origen idiopático, sin embargo, existen tres hipótesis que tratan de explicar el origen de las oscilaciones espiga-onda que se presentan durante el electroencefalograma durante las crisis de ausencia. La hipótesis “*centroencefálica*” propuesta por Penfield y colaboradores en 1957 propone un origen subcortical-talámico de las descargas espiga-onda, las cuales tienen apariencia sincrónica bilateral y poseen un retraso de 1-2 segundos en la corteza cerebral (Penfield., 1957). La siguiente hipótesis fue propuesta por Gloor en 1969 y es conocida como “*reticular*” y propone que el origen de las descargas espiga-onda subyace en las estructuras reticulares del tallo cerebral y que podrían ser el resultado de alguna falla en

el control de la retroalimentación negativa normal de las vías cortico-reticulares (Gloor., 1969). La tercera hipótesis es la más aceptada y fue propuesta por Niedermeyer en 1996, él propone que el foco epiléptico tiene lugar en la corteza somatosensorial y se propaga hacia otras áreas corticales, además el tálamo tiene un papel importante, ya que es la estructura que sostiene la ritmicidad de las descargas-espiga onda (Figura 3). Se ha descrito que los circuitos tálamo-corticales interactúan de manera bidireccional, sin embargo, poseen un inicio cortical (Meeren y cols., 2002). Adicionalmente, se ha demostrado que las descargas espiga-onda de las ratas Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg, Francia (GAERS) poseen un origen en las capas 5 y 6 de la corteza somatosensorial (Polack y cols., 2007).

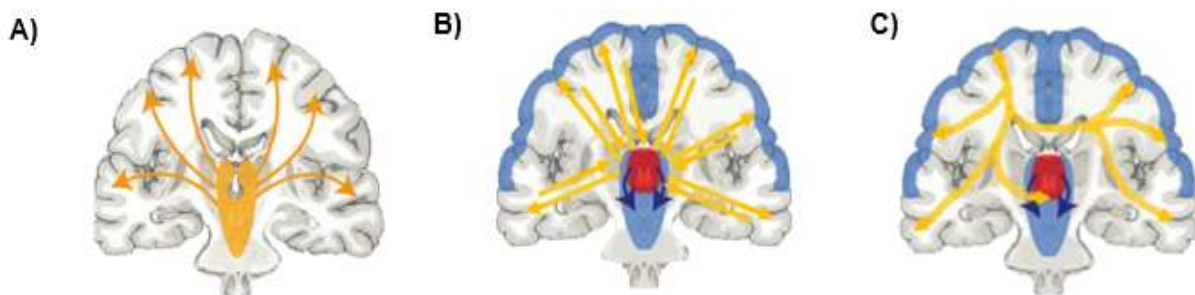


Figura 3. Hipótesis sobre el origen de las descargas espiga onda. A) Hipótesis centroencefálica propone un origen subcortical-talámica de las descargas, la cual fue propuesta por Penfield en 1958. **B)** Hipótesis cortico-reticular propone un origen en las estructuras reticulares del tallo cerebral, la cual fue propuesta por Gloor en 1969. **C)** Hipótesis propone que las descargas espiga-onda poseen un origen en la corteza somatosensorial y se propagan hacia otras áreas corticales (Modificado de Blumenfeld, 2012).

Estudios posteriores describieron al circuito tálamo-cortical como un detonador de la frecuencia de las descargas espiga-onda, principalmente las neuronas piramidales y las tálamo-corticales, las cuales son las responsables de la excitación del núcleo reticular talámico siendo la frecuencia de las descargas espiga-onda un reflejo de los disparos de las neuronas tálamo-corticales (Kostopoulos, 2000).

También se ha descrito la participación del ácido gamma-aminobutírico (GABA), principalmente a través del receptor GABA_A, como el principal neurotransmisor implicado en el inicio y la transmisión de las descargas espiga-onda durante las crisis de ausencia (Pinault y O'brien, 2005; Crunelli y cols., 2011).

3.5 Fármacos para el control de las crisis de ausencia.

Es fundamental entender los mecanismos de la epileptogénesis para discernir la fisiopatología de las crisis de ausencia. Así mismo la búsqueda de fármacos con acción antiepiléptica (FAE) la cual ha generado un campo de investigación amplio, pero dado que la fisiopatología de las crisis de ausencia no ha sido totalmente dilucidada, los mecanismos de acción de los fármacos antiepilépticos tienen acciones específicas. Adicionalmente el 30% de los pacientes no responden al tratamiento farmacológico, por lo que se ha optado por el uso combinado de diversos fármacos especialmente aquellos que muestran sinergia cuando son evaluados en modelos animales (Macdonald y Kelly, 2004; Czapinski y cols., 2005). En la actualidad se han diseñado tres generaciones de fármacos antiepilépticos, los cuales han sido utilizados para el control de las crisis de ausencia como monoterapia o de manera conjunta cuando los pacientes muestran farmacorresistencia (Loscher, 1998; López-Hernández y cols., 2005; Stephen y Brodie, 2012). Los fármacos de primera generación son; carbamazepina, fenitoína, etosuximida, fenobarbital y primidona los cuales se emplearon entre 1910 y 1970, como la primera opción para el tratamiento de las crisis de ausencia. Los fármacos de segunda generación son: ácido valproico, lamotrigina, vigabatrin, topiramato y gabapentina. La tercera generación la constituyen; lacosamida, pregabalina y rufinamida que a la fecha se encuentran en debate sobre su uso debido a que no se conoce su mecanismo de acción (Löscher, 1998).

En los últimos años los principales focos de investigación sobre los mecanismos de acción de los fármacos con acción antiepiléptica de primera y segunda generación se han concentrado básicamente en tres mecanismos;

- 1.-El bloqueo de los canales de sodio dependientes de voltaje, los cuales generan el disparo repetitivo en las neuronas (Macdonald y Kelly, 2004).
- 2.-Un incremento de la neurotransmisión inhibitoria mediada por GABA (Macdonald y Bergey, 1979).
- 3.- El bloqueo de la transmisión excitatoria glutamatérgica (Bittigau y cols., 2002) Véase la Tabla 1.

Tabla 1. Principales mecanismos de acción de los fármacos antiepilépticos.			
Fármaco	Bloqueo de canales de Na ⁺ dependientes de voltaje.	Aumento de la inhibición mediada por GABA.	Bloqueo de la transmisión excitatoria glutamatérgica
Ácido valproico	 (McLean y Macdonald, 1986; Loscher, 1993; Macdonald y Kelly, 2004)	 (Macdonald y Bergey, 1979; Chapman y cols., 1982; Loscher, 1993)	 (Macdonald y Kelly, 2004)
Etosuximida	SE (Coulter y cols., 1989; Macdonald y Kelly, 2004; Glauser y cols., 2010)	 (Loscher, 1998; Glauser y cols., 2010)	SE (Loscher, 1998)
Lamotrigina	 (Chang y cols., 1998; Macdonald y Kelly, 2004; Brigo y Igwe Stanley, 2017)	SE (Coulter, 1997; Macdonald y Kelly, 2004)	 (Coulter, 1997; Chang y cols., 1998; Macdonald y Kelly, 2004)
Fenitoína	 (Yaari y cols., 1986; Macdonald y Kelly, 2004)	 (Yaari y cols., 1986; Macdonald y Kelly, 2004)	 (Macdonald y Kelly, 2004)
Benzodiacepina	 (Henriksen, 1998; Loscher, 1998; Macdonald y Kelly, 2004)	 (Henriksen, 1998; Loscher, 1998)	SE (Loscher, 1998; Macdonald y Kelly, 2004)
Topiramato	 (Patsalos, 1999; Privitera et al., 2003; Faught, 2007)	 (Czapinski et al., 2005; Faught, 2007)	<i>¿?</i>
Vigabatrin	<i>¿?</i>	 (Czapinski et al., 2005; Menachem, 2011)	<i>¿?</i>
Gabapentina	 (Kelly, 1998; Macdonald y Kelly, 2004)	 (Kelly, 1998; Macdonald y Kelly, 2004)	 (Kelly, 1998; Macdonald y Kelly, 2004)

El efecto indicado con  = Muy efectivo,  = Efectivo, SE= Sin efectos y *¿?* = No se tienen datos.

El fármaco más usado como monoterapia es la etosuximida (ETX), el cual pertenece al tipo de las succinimidas, reduce la frecuencia de las crisis de ausencia hasta en un 70% (Panayiotopoulos, 2001) mediante el bloqueo de las corrientes de calcio de tipo T de bajo umbral (IT) , (Coulter y *cols.*, 1989), además de inhibir las corrientes de sodio en el tálamo (Leresche y *cols.* , 1998).

El ácido valproico (ácido 2-propilpentanoico; Figura 4) es un fármaco antiepiléptico de segunda generación descubierto por Burton en 1882, sin embargo, no fue usado como antiepiléptico hasta 1962. Posee una biodisponibilidad del 90% y una vida media de entre 5 y 9 horas, por lo cual es descrito como uno de los fármacos antiepilépticos con mayor duración en sus efectos (Perucca y *cols.*, 1978). Es comúnmente llamado valproato debido a que la mayoría de sus formulaciones son sales, pero al metabolizarse es convertido en ácido valproico que es el principio activo (Flores, 2014). Tiene propiedades anticonvulsivas en varios modelos experimentales que probablemente se deben a diversos mecanismos de acción, entre los cuales están el aumento de los niveles de GABA a través del bloqueo de enzimas implicadas en su metabolismo (Loscher, 1993; Kammerer y *cols.* , 2011), en combinación con sus efectos como inhibidor débil de los canales iónicos como los de sodio dependientes de voltaje (Large y *cols.*, 2009; Cheong y Shin, 2013).

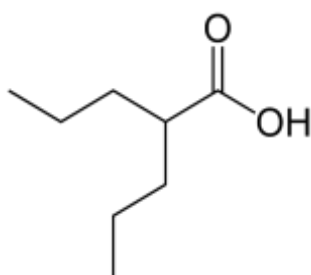


Figura 4. Representación de la estructura química del ácido valproico. El ácido valproico (ácido 2-propilpentanoico) es un ácido graso ramificado estructuralmente relacionado con el ácido gamma-aminobutírico (GABA).

El efecto del ácido valproico en el metabolismo y en la degradación del ácido gamma-aminobutírico (GABA) aún no se esclarece totalmente, sin embargo, se le ha atribuido que se debe a la inhibición de la enzima GABA transaminasa (GABA-T), la cual es la

encargada de la degradación del neurotransmisor inhibitorio hacia succinato semialdehído (SSA) (Löscher y *cols.*, 1981; Loscher, 1993; Kammerer y *cols.*, 2011). Además, diversos estudios que se llevaron a cabo en ratas señalan que estos efectos son potenciados debido a un aumento en la síntesis de GABA a partir del ácido glutámico (Loscher, 1993; Crunelli y *cols.*, 2012; Bertelsen y *cols.*, 2018) (Figura 5).

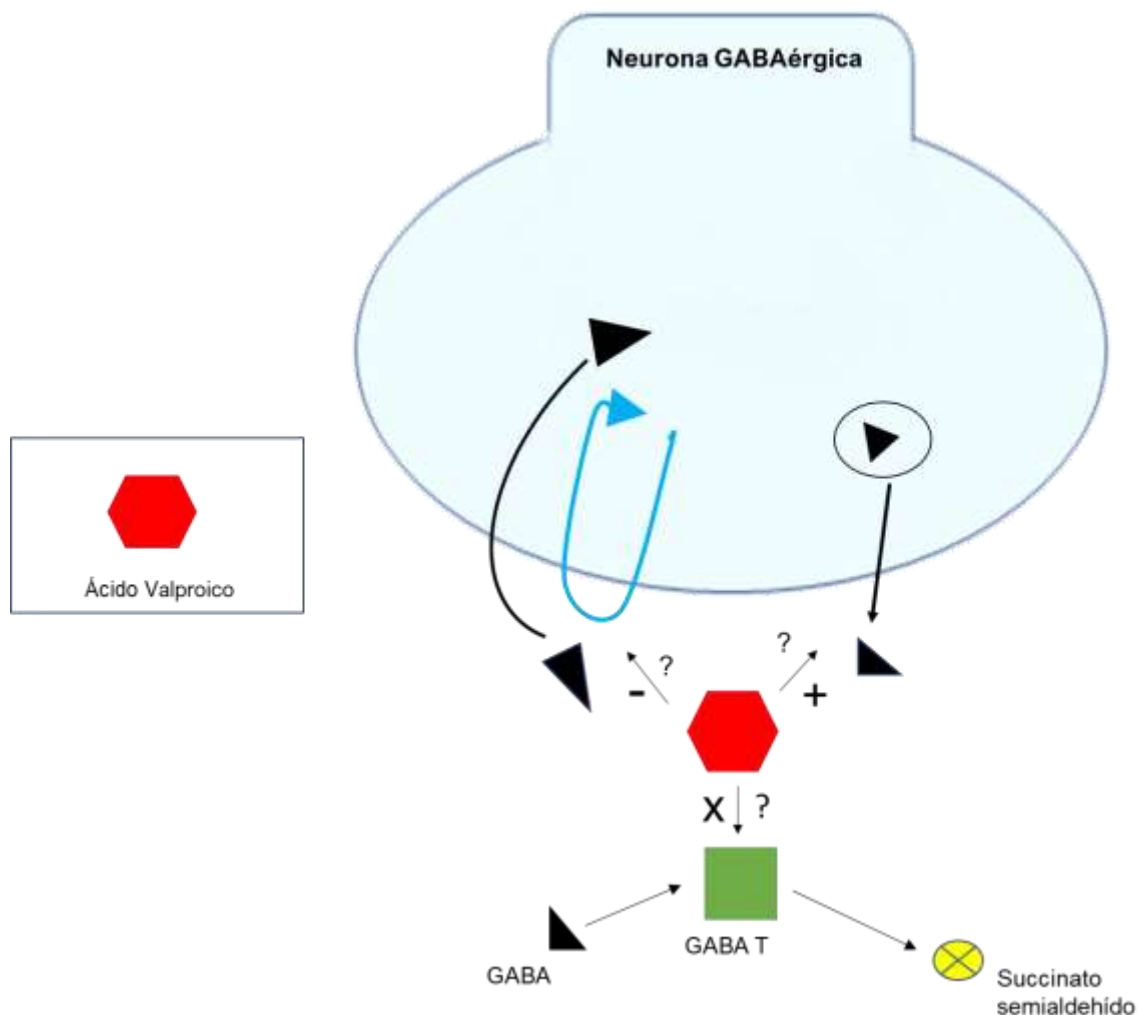


Figura 5. Posibles mecanismos de acción del ácido valproico sobre GABA. Efecto del ácido valproico en la inhibición de la recaptura de GABA, en el aumentando de liberación de GABA e interfiriendo en su degradación metabólica hacia succinato semialdehído por medio de la enzima GABA transaminasa (GABA-T).

Aún no se conoce con exactitud el efecto del ácido valproico sobre los canales de iónicos de sodio y calcio tipo T (Kelly y *cols.*, 1990; Johannessen y Johannessen, 2003), sin embargo, se ha propuesto una hipótesis que señala al metabolito 2-en-valproico como el

posible responsable de la inhibición de los canales de sodio dependientes de voltaje (McLean y Macdonald, 1986)

En humanos se han descrito dos tipos de respuestas antiepilépticas; una inmediata justo después de la administración del fármaco, y una tardía que sólo se obtiene después de una administración prolongada, probablemente debida a sus mecanismos de acción y a la dosis administrada, por lo que existe una correlación dosis-respuesta a largo plazo de los efectos del ácido valproico (Johannessen y Johannessen, 2003; Figura 6). Además de que puede disminuir las crisis de ausencia hasta por tres meses después de haber suspendido su administración (Targas Yacubian y cols., 2014)

Por otro lado, también se ha descrito que el ácido valproico administrado de manera crónica y a dosis mayores a los 600 mg/Kg posee efectos secundarios de hepatotoxicidad en alrededor del 10% de los pacientes además de que es un agente teratogénico por lo que no debe administrarse en mujeres embarazadas. Sin embargo, es el fármaco antiepiléptico con menor cantidad de efectos secundarios descritos a la fecha (Perucca, 2002).

Debido a su amplio espectro de efectos, a su farmacodinamia y a sus pocos efectos secundarios, el ácido valproico ha sido propuesto como uno de los mejores fármacos antiepilépticos, dada su eficacia de un 75% para el tratamiento de crisis epilépticas (Perucca, 2002). A su vez se ha demostrado que el ácido valproico y la lamotrigina actúan sinérgicamente para disminuir el número de crisis, en tratamientos contra la epilepsia refractaria (Brodie y Yuen, 1997). En humanos se ha descrito la capacidad del ácido valproico para disminuir las crisis de ausencia por encima de la etosuximida y lamotrigina cuando el tratamiento inicial es monoterapéutico (Glauser y cols., 2014).

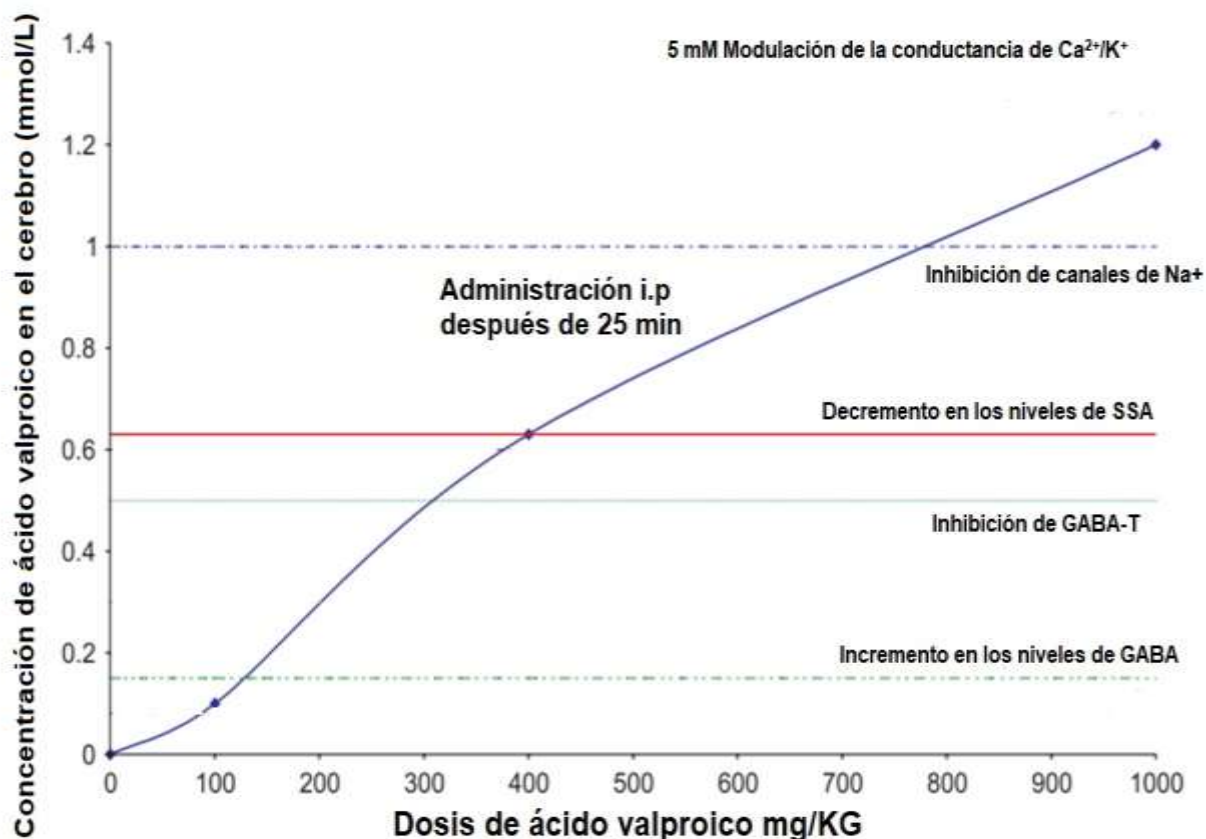


Figura 6. Curva dosis-respuesta de los efectos del ácido valproico después de 25 de min de su administración en el ratón. Se muestran los diferentes mecanismos de acción del ácido valproico en relación con la dosis administrada vía intraperitoneal (i.p). Se observa en primera instancia un incremento en los niveles de GABA (Loscher, 1993), seguido de la inhibición de la enzima GABA transaminasa (GABA-T) (Kammerer y cols., 2011) y un decremento en los niveles de Succinato semialdehído (SSA) (Loscher, 1993; Piplani y cols., 2016). Al final se observa la inhibición de los canales de Na^+ y la modulación en la conductancia de $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^+$ (McLean y Macdonald, 1986). Tomado y modificado de (Johannessen y Johannessen, 2003)

3.6 Modelos animales para el estudio de las crisis de ausencia

La comprensión de los mecanismos involucrados en la epilepsia del tipo de las crisis de ausencia, así como la búsqueda de mejores opciones de tratamiento y fármacos más eficaces, nos ha llevado al uso de modelos animales que han sido de vital importancia para las investigaciones científicas. Los modelos de crisis de ausencia inducidos por fármacos durante muchos años representaron la mayor parte del campo de investigación, entre ellos están el modelo inducido por dosis bajas de pentilenetetrazol, antagonista selectivo del receptor $\text{GABA}_{\text{A}1}$ y el modelo inducido por la administración de AY-9944(1,4-bis-[2-clorobenzilaminome-til]-ciclohexano dihidrocloruro) el cual inhibe la biosíntesis de colesterol y produce ausencias atípicas (Eguibar y Cortés, 2010). Por otro lado, desde

que surgieron los modelos genéticos que poseen mutaciones poligénicas como las ratas WAG/Rij (del inglés Wistar Albino Glaxo rats from Rijswijk, de los Países Bajos), las ratas GAERS (del inglés Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg, Francia) y las ratas *taiep* del acrónimo temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis obtenidas en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en México (Holmgren y cols., 1989). Estos modelos han sido de gran utilidad para la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos que conllevan las descargas espiga-onda presentes en el electroencefalograma características de las crisis de ausencia. Otros modelos genéticos de crisis de ausencia en ratones son aquellos que poseen mutación en sólo gen, entre los que se encuentran:

- Ratón letárgico: presenta una alteración en el cromosoma 2, afectando a la subunidad $\beta 4$ del canal de 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 Ca^{+2} , que provoca ataxia, movimientos de cabeza (cabeceo) y descargas de tipo espiga-onda (Letts y cols., 1998).
- Ratón Tottering: presenta una mutación en el cromosoma 8 codifica para la subunidad $\eta 1$ del canal de Ca^{+2} ; el animal presenta ataxia, convulsiones 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 Ca^{+2} , que ocasiona ataxia severa y descargas corticales tipo espiga-onda; el animal muere al destete debido a las alteraciones del sistema nervioso central (Noebels, 1984).
- Ratón Mocha: presenta una mutación en el cromosoma 10 que modifica la subunidad δ 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 Ca^{+2} . Presenta ataxia, discinesia paroxística,

alteraciones de la marcha y descargas corticales punta-onda. No sobrevive más de 35 días (Sarkisian, 2001).

Adicionalmente, las crisis de ausencia en humanos se caracterizan por ser espontáneas e impredecibles, por lo cual resulta fundamental que los modelos genéticos posean estas características.

La rata Genetic Absence Epilepsy from Strasbourg (GAERS)

El modelo francés descrito inicialmente por Vergnes y cols., en 1982, presenta en el electroencefalograma (EEG) descargas espiga-onda de 7–11 Hz con una duración media de 18–25 segundos y una frecuencia de 1.5 por minuto, presentan un inicio y final abrupto (véase Figura 7). Conductualmente el animal permanece inmóvil y tiene pequeñas contracciones faciales (Vergnes y cols., 1982; Marescaux y cols., 1995). En cuanto a su fisiopatología se ha sugerido la participación de las neuronas GABAérgicas de la sustancia nigra *pars reticulata* (SNpr) y de los colículos superiores (Danover y cols., 1998).

La caracterización farmacológica de las descargas espiga-onda de las ratas GAERS ha sido estudiada después de la administración de diferentes fármacos como la fenitoína la cual induce un aumento en la frecuencia de las crisis de ausencia, pero no se encontraron diferencias significativas en cuanto a su duración de estas. La pregabalina que disminuyó la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia en este modelo, pero no se reportaron cambios en su latencia al primer evento de crisis de ausencia (Higgins y cols., 2010). En otros estudios los fármacos involucrados en el metabolismo del GABA no han mostrado cambios significativos en la frecuencia de las crisis de ausencia (Serikawa y cols., 2015).

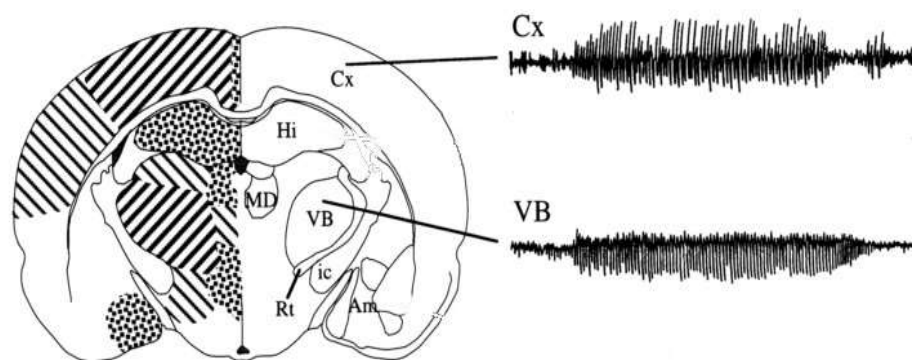


Figura 7. Electroencefalografía en una rata GAERS. Se observan las descargas espiga onda características de la rata GAERS en el electroencefalograma, note el registro de corteza somatosensorial (Cx) y del núcleo ventrobasal del tálamo (VB), Am: Amígdala, MD: Núcleo talámico mediodorsal, Hi: Hipocampo, Rt: Núcleo reticular talámico, Ic: Cápsula interna (Modificado de Danober y cols ., 1998).

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

Es un modelo obtenido en los Países Bajos descrito por Coenen y van Luijtelaar en 1986, presenta descargas espiga-onda con una frecuencia de 7-10 Hz, las cuales se presentan de manera abrupta durante el ciclo sueño-vigilia, tienen una duración entre 5 y 15 segundos, poseen un inicio entre los 2 a 3 meses de edad, tienen una frecuencia de entre 16 y 20 descargas por hora y no muestran diferencias entre sexos (van Luijtelaar and Coenen, 1986; Drinkenburg y cols ., 1993; Coenen and Luijtelaar, 2003). Las descargas son bilaterales, simétricas y se presentan en toda la corteza cerebral (Meeren y cols ., 2002) véase la Figura 8.

En cuanto a su perfil farmacológico se ha descrito una disminución de las crisis de ausencia con la administración de fármacos bloqueadores de los canales calcio tipo T (Dezsi y cols., 2013), con fármacos que bloquean los de canales de sodio, o con inhibidores de la enzima GABA-T (Russo y cols., 2011) y agonistas del receptor GABA_A (Klioueva y cols., 2001).

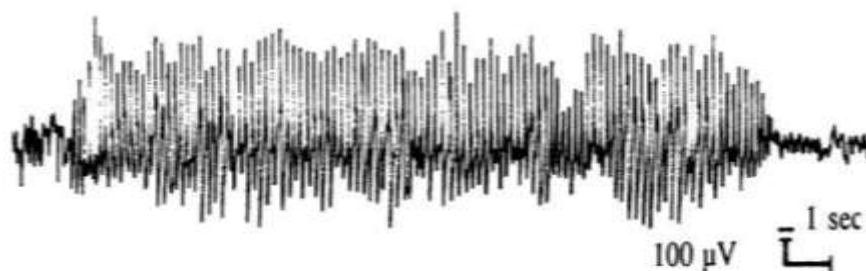


Figura 8. Descarga espiga onda de la rata WAG/Rij. Descarga espiga onda típica de la rata WAG/Rij Tomado y modificado de Renier y Coenen, 2000.

La rata mutante de mielina *taiep*

La rata *taiep* es un mutante de mielina con herencia autosómica recesiva la cual 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 cruza endogámicas para producir una rata con una alta frecuencia de bostezo (Holmgren y cols., 1989). El nombre *taiep* deriva del acrónimo de los principales signos neurológicos que presenta temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis. Se ha descrito que la rata *taiep* muestra hipomielinización inicial seguida de desmielinización progresiva del sistema nervioso central (Duncan y cols., 1992; Lunn y cols., 1997a). La fisiopatología es causada por una acumulación de microtúbulos del citoplasma que afectan al sistema de transporte del retículo endoplásmico rugoso hacia la región *Cis* del aparato de Golgi dando como resultado una falla en el transporte de proteínas de la mielina (Couve y cols., 1997), por lo que existe una disminución de las proteínas de la mielina como la proteína básica de la mielina (PBM), la proteína proteolipídica (PPL) y la glicoproteína asociada la mielina (GAM Möller y cols., 1997).

Los temblores en la rata *taiep* han sido descritos con una amplitud inicial de 13.3 ± 1.2 Hz al destete aumentando en amplitud y disminuyendo con la edad hasta 5.7 ± 0.6 Hz a los tres meses, la ataxia locomotora inicia a los cuatro meses de vida incrementando la base de soporte y disminuye la velocidad de la marcha (Eguibar y cols., 2018, manuscrito en preparación). Los episodios de inmovilidad tónica inician entre los cinco y seis meses de edad de manera espontánea o al inducirse al sujetar súbitamente la cola o el tórax de la rata (Cortes y cols., 2005). Las descargas espiga onda de la rata *taiep* poseen un

origen frontal y de ahí se propagan hacia la corteza occipital, se presentan de manera espontánea, poseen una duración media entre 5 y 6 segundos y su frecuencia oscila entre 4 y 8 Hz (Eguibar y Cortés, 2010), por ultimo también se ha descrito como un modelo de estudio para el estudio de la narcolepsia-cataplexia debido a que en registros EEG de 24 horas presenta desorganización del patrón del sueño vigilia, sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y sueño de ondas lentas (SOL) disminuidos, pero con un aumento en la media de su duración. Además, presenta una actividad desincronizada asociada con el ritmo theta en el hipocampo con tono muscular variable desde hipotonía hasta atonía durante los episodios de inmovilidad (Cortés, 2012; Eguibar y cols., 2014). Se ha reportado que la rata *taiep* posee una sobrevida de más de 24 meses (Duncan y cols., 2017).

4. ANTECEDENTES

La epilepsia en la rata *taiep* fue inicialmente descrita como del tipo de crisis audiogénicas y producida por estímulos auditivos de 103 dB y con un amplio rango de frecuencias emitidos por una chicharra que se encendía en periodos de 30 segundos (Holmgren y cols., 1989). Posteriormente estudios electroencefalográficos en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor describieron a la rata *taiep* como un modelo para el estudio de las crisis de ausencia debido a que presenta descargas corticales espiga-onda con una frecuencia de 4 a 8 Hz espontáneas e impredecibles, las cuales muestran un incremento en frecuencia y duración a lo largo del ciclo luz-oscuridad, en los machos se presentan a partir del primer mes de edad (Corona, 2012) y en hembras se presentan a partir de los 6 meses de edad (Cortés y cols., 2018, manuscrito en preparación) y con un pico entre los 8 y 9 meses de edad. Además de ser homólogas a las que se producen durante las crisis de ausencia humanas (Figura 9), por lo que es un modelo confiable para el estudio de las crisis de ausencia.

Con el objetivo de caracterizar y analizar el perfil farmacológico de la rata *taiep* han sido administrados diversos fármacos, entre los cuales está el pentilenetetrazol (PTZ), un

inductor de crisis convulsivas, el cual aumentó la frecuencia y duración de las crisis de ausencia, mientras que disminuyeron con la administración de etosuximida (Callejas, 2009) y con la administración de lamotrigina (Corona, 2012). El papel de los fármacos involucrados en la recaptura de GABA, especialmente asociados con los receptores GABA_(A), también han sido estudiados, mostrando una disminución en la frecuencia y en la duración de las descargas espiga-onda en la rata *taiep* (Ibarra-Hernández, 2018).

Las evidencias experimentales sobre el efecto del ácido valproico en las crisis de ausencia en las ratas GAERS y WAG/Rij ha tenido resultados contrastantes, en la rata GAERS, la administración de ácido valproico no tuvo efectos sobre la duración y la frecuencia de las descargas espiga-onda (Leite y Cavalheiro, 1995; Higgins y cols., 2010; Dedeurwaerdere y cols., 2011). Mientras que en las ratas WAG/Rij solo existen estudios sobre el efecto del ácido valproico en combinación con etosuximida, los cuales disminuyeron de manera significativa la frecuencia de las descargas espiga-onda (Renier y Coenen, 2000; Van Rijn y cols., 2004). Por lo que no existe evidencia de estudios sistemáticos sobre los efectos del ácido valproico en ambos modelos. Dado que aún no existe evidencia experimental adecuada sobre el efecto del ácido valproico en las crisis de ausencia de la rata *taiep* ese es el objetivo de este estudio.

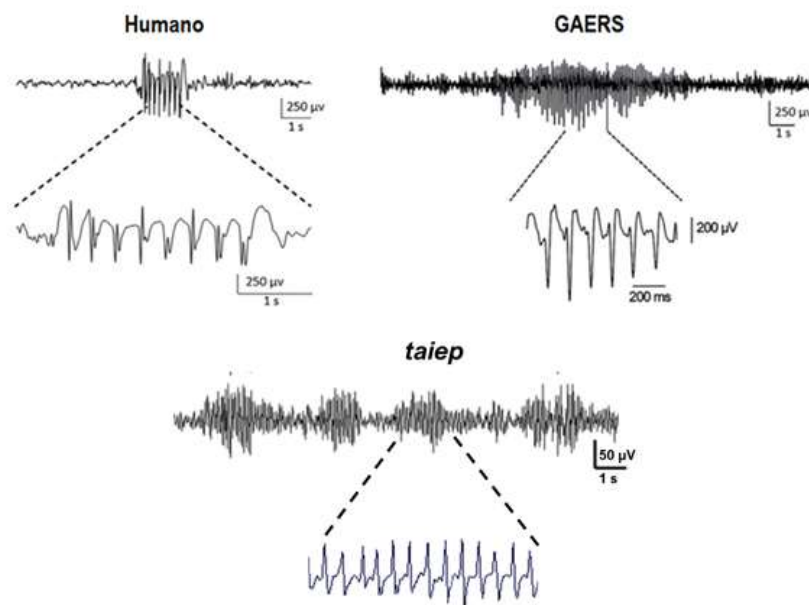


Figura 9. Patrón característico de las descargas espiga-onda durante una crisis de ausencia en humano, GAERS y *taiep*. A) Un humano, B) Una rata GAERS y C) Una rata *taiep*.

5. JUSTIFICACIÓN

Las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia generalizada que afecta al 2% de la población mundial, de los cuales los niños y adolescentes representan el 75% de los pacientes totales. La discriminación contra las personas con epilepsia ocasiona dificultades en la educación, empleo, matrimonio y relaciones sociales (Acevedo, 2008). Por lo que es necesario contar con opciones de tratamiento adecuados, confiables y seguros. Por otra parte, la poca disponibilidad y el alto costo de los fármacos antiepilépticos, aunado al aumento en los últimos años de pacientes con resistencia a fármacos antiepilépticos de primera línea y dado que en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor contamos con el mutante de mielina *taiep*, resulta de gran importancia evaluar el efecto de la administración intraperitoneal de ácido valproico en las crisis de ausencia y contribuir a dilucidar los mecanismos de su fisiopatología.

6. HIPÓTESIS

H₁: La administración de ácido valproico en diferentes dosis disminuirá la frecuencia, la duración y la latencia al primer evento de espiga-onda en la rata *taiep* adultas en registros electroencefalográficos de larga duración.

H₀: La administración de ácido valproico en diferentes dosis no disminuirá la frecuencia, la duración y la latencia al primer evento de espiga-onda en la rata *taiep* adultas en registros electroencefalográficos de larga duración.

7. OBJETIVO

7.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del ácido valproico administrado por vía sistémica en diferentes dosis sobre las crisis de ausencia en la rata *taiep* macho adulta de 9 meses de edad.

7.2 Objetivos particulares

1. Determinar el efecto de la administración intraperitoneal de ácido valproico en dosis de 150 mg/Kg sobre la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia, así como en la latencia a la primera descarga espiga-onda.
2. Determinar el efecto de la administración intraperitoneal de ácido valproico en dosis de 300 mg/Kg sobre la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia, así como en la latencia a la primera descarga espiga-onda.
3. Determinar el efecto de la administración intraperitoneal de ácido valproico en dosis de 600 mg/Kg sobre la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia, así como en la latencia a la primera descarga espiga-onda.
4. Determinar el efecto de la administración intraperitoneal de ácido valproico en dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg sobre la frecuencia y duración de cada crisis de ausencia a lo largo del ciclo luz-oscuridad.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 Sujetos experimentales

Se utilizaron 18 ratas *taiep* macho de 9 meses de edad procedentes del Bioterio de investigación del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor. Las cuales se formaron en grupos al azar como se muestra en la Tabla 2. Se mantuvieron en cajas individuales de acrílico con una cama de viruta de madera comprimida (Aspen Beta Chips, EUA), ciclo de luz-oscuridad 12:12 con encendido de luces a las 0700, libre acceso a alimento para roedores (Purina Mills 8012, Estados Unidos de América) y agua purificada (Ciel™ Coca Cola Co.), con una temperatura controlada de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de 30 a 45 %. Todos los procedimientos se realizaron siguiendo los códigos y leyes de la Norma Oficial Mexicana 062 para el cuidado y manejo de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) y siguiendo las normas 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) siendo evaluado y aprobado por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, COSM-SAL-17-I.

Tabla 2. Metodología para el registro electroencefalográfico (EEG) y grupos experimentales. Se emplearon machos *taiep* de 9 meses de edad, se formaron tres grupos experimentales con seis sujetos cada uno.

Ratas <i>taiep</i> 9 meses n=6	Cirugía estereotáxica para el implante de electrodos	Periodo de recuperación de 5 días con la administración de analgésico (fluxinin 16 mg/Kg) y antibiótico (lincomicina 2 mg/Kg)	Periodo de habitución (3 días)	Registro control con administración de agua estéril	Registro con la administración de 150 mg/Kg de AV
				Registro control con administración de agua estéril	Registro con la administración de 300 mg/Kg de AV.
				Registro control con administración de agua estéril	Registro con la administración de 600 mg/Kg de AV

AV= ácido valproico

8.2 Fármaco

El ácido valproico (ácido 2-propilpentanoico) fue obtenido de Sigma-Aldrich, Química, S.A. de C.V (EUA) y fue administrado en dosis de 150, 300 y 600 mg/Kg de peso corporal por vía intraperitoneal (i.p) según cada tratamiento. Se empleó como vehículo agua estéril.

8.3 Cirugía estereotáxica

Para el implante de electrodos para el registro EEG por medio de cirugía estereotáxica con la ayuda de un aparato estereotáxico (Kopf), en condiciones de asepsia y antisepsia utilizando yodopovidona (Isodine™). Las ratas fueron anestesiadas previamente mediante la administración intraperitoneal de 75 mg/kg de ketamina (Anesket, Pisa) y 5 mg/Kg de xilacina (Cheminova). Se realizó una incisión media a lo largo del cráneo con un bisturí del número 4 y una navaja del número 20, se removió el periostio con una legra

y a continuación se realizaron 4 trépanos por arriba de la corteza cerebral en las regiones: frontal, parietal y occipital, para anclar tres electrodos de tornillo de acero inoxidable y adicionalmente se colocó un electrodo bipolar de profundidad de platino trenzado recubierto de teflón (Plastics One Inc.), en el hipocampo derecho en la región CA1, siguiendo las coordenadas estereotáficas del atlas estereotáfico de Paxinos y Watson (2007), siendo los ejes anteroposterior: -4 mm, mediolateral: -2.5 mm, dorsoventral: -2.5 mm empleando bregma como referencia estereotáfica (Figura 10). Adicionalmente se colocaron electrodos de nicromio en los músculos de la nuca para el registro del electromiograma (EMG) y otro electrodo implantado en la parte posterolateral de la órbita ocular derecha para registrar la actividad electroencefalográfica ocular (EOG). Todos los electrodos se unieron mediante un conector de 6 polos y se fijaron al cráneo mediante acrílico dental (MDC dental ®).

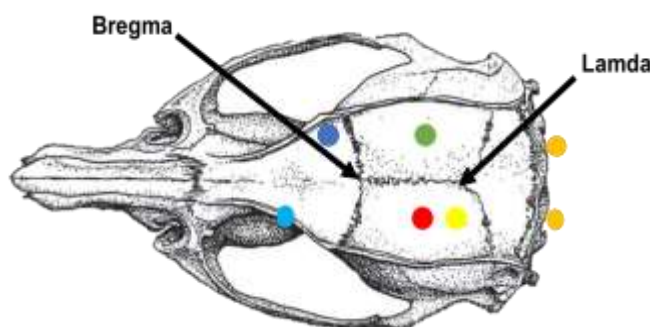


Figura 10. Localización de los electrodos de registro. Se esquematiza la posición espacial de los electrodos que se implantaron mediante cirugía estereotáfica. En color azul marino, rojo y amarillo electrodos de corteza, en verde está el electrodo de hipocampo, en azul cielo electrodo para electrooculograma (EOG) y finalmente los electrodos en los músculos de la nuca para electromiograma (EMG) en color naranja.

Después de la cirugía, los animales se mantuvieron en recuperación durante cinco días en condiciones antibioticoterapia mediante la administración de 16 mg/Kg de clorhidrato de lincomicina y 32 mg/Kg de espectinomicina sulfato (Five-Lincopectin, Fivevent), y analgesia con 2 mg/Kg de flunixin meglumina (Napzin® Pisa) vía subcutánea en la región dorsal del cuello, bajo la estricta supervisión del médico veterinario y zootecnista certificado Omar Isidro Maldonado

8.5 Habitación pre-registro

Las ratas se habituaron por tres horas durante tres días en condiciones de registro con el implante conectado a un sistema móvil, con disposición de agua y alimento ad libitum, en un cuarto sonoamortiguado y en condiciones microambientales controladas con ciclo luz-oscuridad de 12:12, con encendido de luces a las 0700, temperatura de 22 ± 2 °C con una humedad relativa de 30 a 45%.

8.6 Registro electroencefalográfico (EEG)

Se realizaron registros electroencefalográficos de 24 horas de duración. Se colocó a la rata en condiciones de registro media hora antes del experimento, cada registro comenzó a las 0800 previamente se le administró ácido valproico, en las ratas control se les administró agua estéril ajustando la concentración a un volumen de 1 mL/K. Se grabó la actividad conductual de cada rata mediante una cámara de video-filmación (Sony Digital Recorder CDR-TRV260 NTSC) en sincronía con el programa de EEG en un cuarto sonoamortiguado y con ciclo de luz-oscuridad 12:12 con encendido de luces a las 0700. Se utilizó el programa de computo Harmonie Stellate, versión 5.2a (Stellate Company, Canadá) para el registro de EEG y el posterior análisis de las crisis de ausencia (véase Figura 11).

8.7 Criterios de identificación de las descargas espiga-onda

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

1. La descarga debe aparecer en todos los canales corticales.
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 4 a 8 Hz.
5. El inicio y termino de las descargas espiga-onda debe ser abrupta.
6. Las ratas deben permanecer quietas durante el periodo de la crisis.

Una vez identificadas las crisis de ausencia se analizó:

1. La frecuencia de las descargas: el número de descargas espiga-onda cada dos horas.
2. La duración de las descargas: tiempo que dura cada descarga espiga-onda.
3. La latencia de la primera descarga: el tiempo desde que inicia el registro 08:00 hasta la aparición de la primera crisis de ausencia.

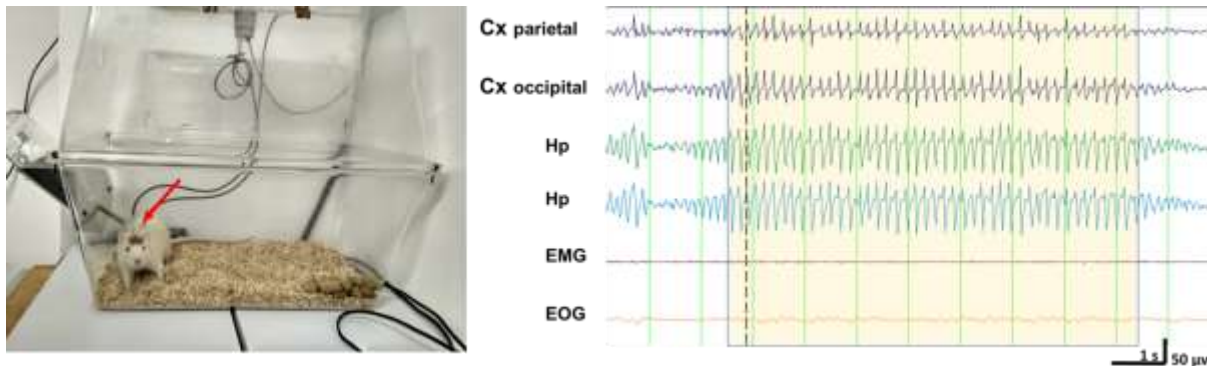


Figura 11. Registro electroencefalográfico en una rata *taiep* macho adulto. El registro se realizó en una jaula con un sistema móvil colocada en un cuarto sonoamortiguado y en condiciones controladas. Se muestra una crisis de ausencia (sombreada en color amarillo) Note la flecha roja señalando los electrodos. Cx: corteza, Hp: Hipocampo, CA1, EMG: electromiograma y EOG: electrooculograma.

8.8 Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico Sigma Plot versión 11.0 para graficar la media $\pm$ error estándar de la frecuencia, la duración y la latencia al primer evento de crisis de ausencia cada dos horas, así como la incidencia en las fases de luz y oscuridad del ciclo circadiano.

La frecuencia, la duración y la latencia se analizaron con el programa estadístico SPSS versión 22.0 mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de una prueba de comparaciones múltiples de Dunnett para analizar los efectos del ácido valproico respecto al grupo control en el tiempo y comparar las curvas tiempo-respuesta. Se considero significativo una $P \leq 0.05$.

9. RESULTADOS

9.1 Efecto del ácido valproico en la frecuencia, la duración y la latencia de las crisis de ausencia

Se obtuvieron resultados significativos en la frecuencia de las crisis de ausencia durante las primeras cuatro horas después de la administración de ácido valproico 300 mg/Kg con un decremento máximo de un 42% a las 17:00 (23 ± 6.2 crisis; ANOVA con $F_{28}=6.25$ y $P < 0.05$, seguido de la prueba de Dunnett, $*P < 0.001$) con respecto al grupo control (57 ± 6.2 crisis). Con la dosis de 600 mg/Kg obtuvimos resultados significativos durante las primeras siete horas después de la administración del fármaco, con un decremento máximo de un 51% a las 21:00 (15 ± 4.1 crisis; ANOVA con $F_{28}=8.2$ y $P < 0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $*P < 0.001$) respecto al grupo control (64 ± 6.2 crisis). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de las crisis de ausencia durante la administración de ácido valproico con la dosis de 150 mg/Kg (véase Figura 12).

La duración de las crisis de ausencia disminuyó significativamente durante la administración de ácido valproico a las 11:00 con la dosis de 150 mg/Kg de un 20% (7.43 ± 0.2 s; ANOVA con $F_{1440}=40.23$ y $P < 0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $*P < 0.001$) con respecto al grupo control (9.13 ± 0.2 s). Tras la administración de la dosis de 300 mg/kg se obtuvieron resultados significativos durante cuatro horas después de la administración del fármaco con un decremento máximo de un 25% a las 15:00 ($6.25 \pm$

0.2; ANOVA con $F_{1440}=40.23$ y $P<0.001$, seguido de la prueba Dunnett, $\&P<0.001$) con respecto al grupo control (9.13 ± 0.2 s) y una disminución significativa durante seis horas después de la administración con la dosis de 600 mg/Kg, con una disminución máxima de un 66% a las 11:00 (4.08 ± 0.2 s; ANOVA con $F_{1440}=40.23$ y $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $\&P<0.001$) con respecto al grupo control (9.13 ± 0.2 s) (véase Figura 13).

La latencia de las crisis de ausencia aumentó significativamente con respecto al grupo control un 420% para la dosis de 300 mg/Kg (1237 ± 248 s; ANOVA $F_{29}=15$ y $P<0.001$, seguido de una prueba de Tukey $\&P<0.001$) y un 550% con la dosis de 600 mg/Kg (1758 ± 256 s; ANOVA $F_{29}=6$ y $P<0.001$, seguido de prueba de Tukey $\&P<0.001$).

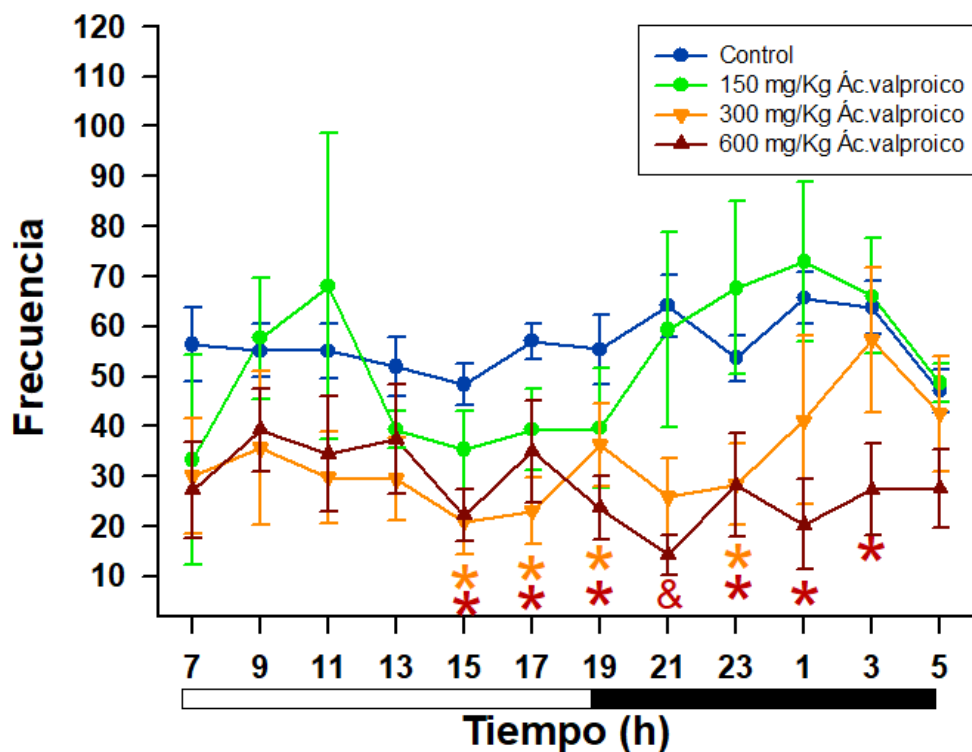


Figura 12. Efecto del ácido valproico sobre la frecuencia de las crisis de ausencia. El ácido valproico disminuyó significativamente la frecuencia de las crisis de ausencia en la dosis de 600 mg/Kg y 300 mg/Kg con respecto al grupo control, disminuyendo un 51% (15 ± 4.1 crisis; ANOVA con $F_{28}=8.2$ y $P<0.001$,

seguido de la prueba de Dunnett, $&P<0.001$) a las 21:00 y a las 17:00 de un 44% (23 ± 6.2 crisis; ANOVA con $F_{28}=6.25$ y $P<0.05$, seguido de la prueba de Dunnett, $*P<0.001$) respectivamente.

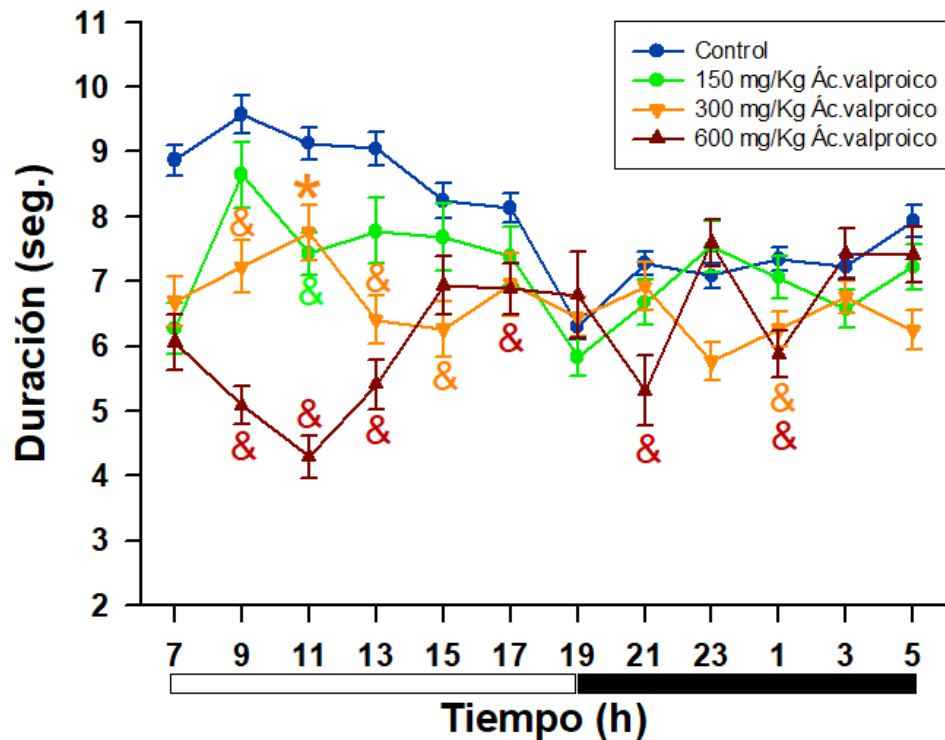


Figura 13. Efecto del ácido valproico sobre la duración de las crisis de ausencia. El ácido valproico disminuyó significativamente con respecto al grupo control la duración de las crisis de ausencia durante cuatro horas después de la administración de la dosis de 300 mg/Kg, disminuyó un 25% (6.25 ± 0.2 ; ANOVA con $F_{1440}=40.23$ y $P<0.001$, seguido de la prueba Dunnett, $&P<0.001$) a las 15:00 mientras que disminuyó durante seis horas después de la administración de la dosis de 600 mg/Kg, disminuyó un 66% (4.08 ± 0.2 s; ANOVA con $F_{1440}=40.23$ y $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $&P<0.001$) a las 11:00.

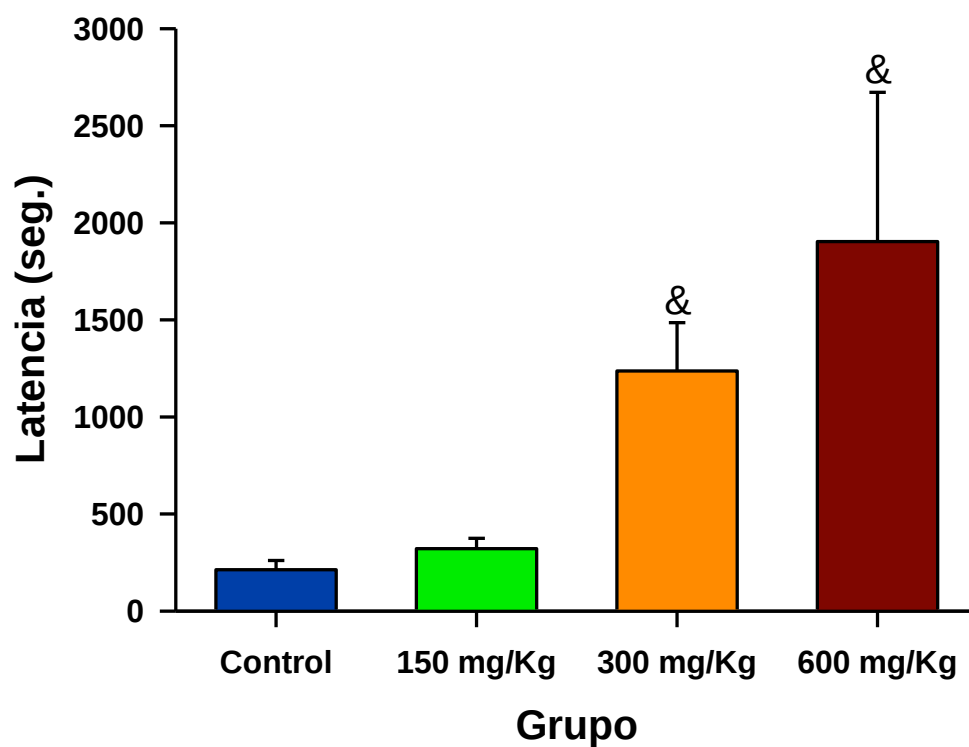


Figura 14. Efecto del ácido valproico sobre la latencia de las crisis de ausencia. El ácido valproico aumento significativamente con respecto al grupo control en un 420% y un 550% para las dosis de 300 y 600 mg/Kg respectivamente.

9.2 Efecto del ácido valproico en las crisis de ausencia en las fases de luz-oscuridad

Al analizar los efectos del ciclo luz-oscuridad obtuvimos una disminución de un 64% en la frecuencia de las crisis de ausencia con la administración de la dosis de 300 mg/Kg de ácido valproico durante la fase de luz (117.07 ± 40 crisis; ANOVA $F_{29}=4.7$ y $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $^*P<0.001$) en relación con el grupo control (325 ± 19 crisis). En contraste con una disminución del 60% en la frecuencia de las crisis de ausencia que se obtuvo con la administración de 600 mg/Kg de ácido valproico durante la fase de oscuridad (140 ± 40 ANOVA $F_{29}=4.7$ y $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $^*P<0.001$) con respecto al grupo control (350 ± 22 crisis).

En la duración de las crisis de ausencia se obtuvo una disminución significativa con la administración de ácido valproico con las dosis de 600 mg/Kg, 300 mg/Kg y 150 mg/Kg con una disminución máxima de un 60% en la dosis de 600 mg/Kg durante la fase de luz (5.33 ± 0.14 s; ANOVA $F_{8068}=88$ y $P<0.001$, seguido de una prueba de Dunnett, $^*P<0.001$) con respecto al grupo control (8.86 ± 0.08). En contraste con la fase de oscuridad donde solo se obtuvieron resultados significativos con la administración de ácido valproico en dosis de 300 mg/Kg con una disminución del 10% (6.49 ± 0.12 s; ANOVA $F_{8068}=88$ y $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $^*P<0.001$) con respecto al grupo control (7.18 ± 0.08 s; Figura 15).

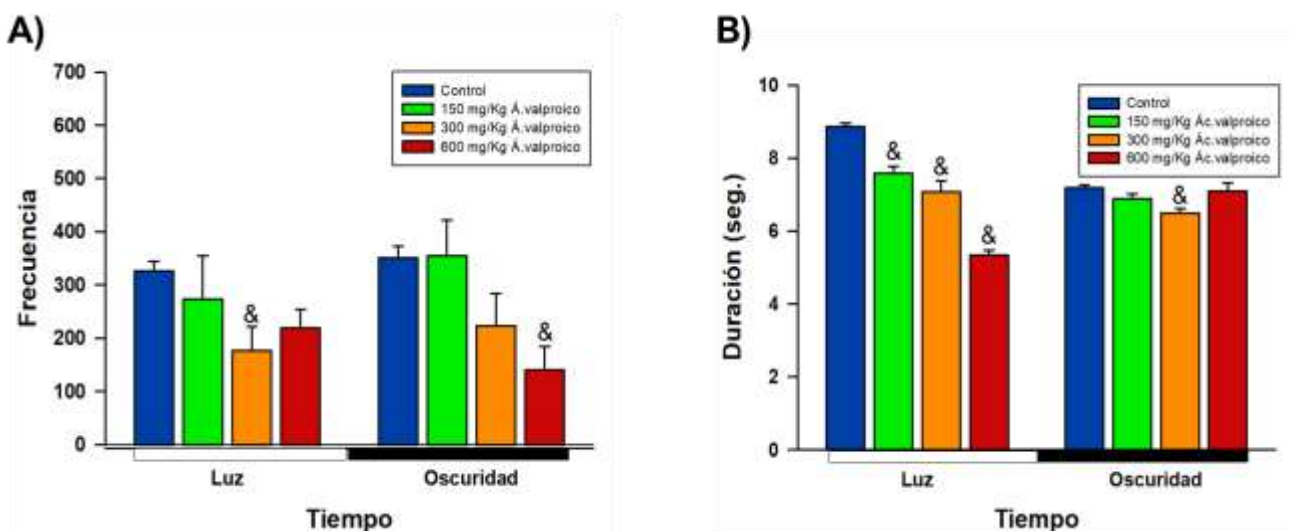


Figura 15. Efecto del ácido valproico en las fases de luz-oscuridad. En **A)** se observa la frecuencia de las crisis de ausencia a lo largo del ciclo luz-oscuridad mostrando disminución máxima del 64% (117.07 ± 40 crisis; ANOVA $F_{29}=4.7$ y $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunnett, $^*P<0.001$) para la dosis de 300 mg/Kg de ácido valproico **B)** se observa la duración de las crisis de ausencia mostrando disminución del 60% (5.33 ± 0.14 s; ANOVA $F_{8068}=88$ y $P<0.001$, seguido de una prueba de Dunnett, $^*P<0.001$) para la dosis de 600 mg/Kg de ácido valproico.

Tabla 3. Efecto del ácido valproico en las crisis de ausencia de la rata <i>taiep</i>			
Dosis de ácido valproico	Frecuencia	Duración	Latencia
150 mg/KG	=	↓	=
300 mg/Kg	↓	↓	↑↑
600 mg/Kg	↓↓	↓↓	=

= Sin cambios significativos

↓ Disminución significativa $P \leq 0.05$

↓↓ Disminución significativa $P \leq 0.001$

↑↑ Aumento significativo $P \leq 0.001$

10. DISCUSIÓN

Si bien es cierto que no se conocen los mecanismos fisiopatológicos de las crisis de ausencia en los humanos, es necesario estudiarlos por medio de estudios farmacológicos en modelos animales. En anteriores estudios de crisis de ausencia en modelos genéticos como son las ratas WAG/Rij y GAERS, los fármacos de primera línea demostraron tener un efecto favorable en el control de las crisis de ausencia, disminuyendo mediante la administración de dosis altas y por periodos prolongados (Van Rijn y cols., 2004), probablemente debido a que en los modelos genéticos de crisis de ausencia la patología se encuentra exacerbada.

En lo que concierne al mutante de mielina *taiep* también hemos comenzado a estudiar el efecto varios fármacos antiepilépticos entre los cuales la etosuximida un bloqueador de canales de calcio tipo T; y la lamotrigina un bloqueador de canales de sodio dependientes de voltaje han demostrado disminuir significativamente la frecuencia y duración de las crisis de ausencia. Mientras que han aumentado mediante la administración pentilenetetrazol un antagonista de los receptores GABA_A y GABA_B (Callejas, 2009) y con el gaboxadol un agonista del receptor GABA_A (Ibarra-Hernández, 2018).

Los presentes resultados muestran que el ácido valproico es capaz de reducir la frecuencia, la duración y la latencia de las crisis de ausencia de la rata *taiep* de manera significativa. Lo que nos indica que los mecanismos de acción del ácido valproico (Cheong y Shin, 2013) deben ser similares en las ratas *taiep* y en los humanos, ya que se ha reportado que el ácido valproico en humanos disminuye las crisis de ausencia en casi un 90% (Brigo y Igwe Stanley, 2017).

Las crisis de ausencia son consideradas como el resultado de oscilaciones anormales entre la corteza cerebral y el tálamo, se ha postulado que estas oscilaciones rítmicas son mediadas por el núcleo reticular del tálamo (Steriade y cols., 1985), a su vez los canales de sodio y calcio tipo T influyen en el disparo de las neuronas talámicas lo que modifica la frecuencia en la aparición de las crisis de ausencia (Valrose y Psycho, 1989; van

Luijtelaa y cols., 1995; Llinas y Steriade, 2006; Tringham y cols., 2012; Cheong y Shin, 2013). De esta manera el bloqueo de los canales de calcio tipo T disminuye la frecuencia de las crisis de ausencia, pero teniendo un efecto muy débil sobre la duración de estas (Tringham y cols., 2012). Se ha reportado que los efectos del ácido valproico como bloqueador de los canales de calcio tipo T son visibles en bajas concentraciones y tienen un efecto inmediato (Kelly y cols., 1990) en contraste con el bloqueo de los canales de sodio donde se requiere que existan altas concentraciones y por un tiempo prologando para disminuir el disparo de las neuronas talámicas (Large y cols., 2009).

Cabe mencionar que anteriores estudios en la rata *taiep* han descrito que existe una alteración en la expresión de los canales de sodio en el cerebelo de las ratas de un año debido al proceso de desmielinización progresiva que sufre (Black y cols., 1999).

La rata *taiep* que se caracteriza por un proceso de hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva del sistema nervioso central pero no del periférico (Duncan y cols., 1992; Lunn y cols., 1997b). La desmielinización progresiva es causada por la disminución generalizada de las proteínas de la mielina, lo que produce una desorganización de la vaina de mielina (Krsulovic y cols., 1999). Si bien existe controversia entre la relación de las enfermedades desmielinizantes con la epilepsia, es posible afirmar que pacientes con esclerosis múltiple son susceptibles a padecer epilepsia (Allen y cols., 2013). Esta relación probablemente se deba a diversos procesos inflamatorios corticales y a lesiones asociadas al foco epiléptico (Calabrese y cols., 2008; Totolyan y cols., 2012).

Adicionalmente, la rata *taiep* muestra una astrogliosis reactiva en zonas del cerebro inicialmente hipomielinizadas, por lo que es posible inferir que existe un correlato entre la desmielinización y la astrogliosis reactiva por activación en el incremento de la proteína fibrilar acídica de la glía (GFAP; Leon-Chavez y cols., 2001) y un proceso de activación con citocinas (Soto-Rodriguez y cols., 2015), además los astrocitos juegan un papel fundamental en la modulación de la sinapsis tripartita en la liberación y modulación de varios neurotransmisores (Areque y cols., 1999). Es por ello que la astrogliosis puede ser relacionada con la aparición de las crisis de ausencia en la rata (Eguibar y cols., 2014; Ibarra-Hernández, 2018) y por lo tanto el ácido valproico es un fármaco que resulta

importante para el estudio de las crisis de ausencia de la rata *taiep*. De manera similar la rata GAERS también posee astrogliosis reactiva, que ha sido asociada un aumento de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) en las estructuras corticales involucradas en el inicio de las crisis de ausencia. (Dutuit y cols., 2000).

Por otra parte, se ha estudiado el papel fundamental que ejerce el neurotransmisor GABA en las crisis de ausencia, estudios en las ratas GAERS sugieren que posee niveles particularmente bajos de neuronas GABAérgicas en el núcleo reticular talámico comparado con ratas Wistar sanas (Çavdar y cols., 2013). Mientras que en las ratas WAG/Rij también se ha descrito un aumento en la inhibición tónica GABA en terminales presinápticas de las interneuronas inhibitorias (Crunelli y cols., 2012; Nejad y cols., 2015).

La administración de fármacos inhibidores de la enzima GABA-T como el vigabatrin y la fenitoína (Gurbanova y cols., 2006; Russo y cols., 2011) producen un decremento en la duración de las descargas espiga-onda. Sin embargo, mostraron efectos adversos durante su administración crónica por lo que suelen ser usados para el tratamiento de las crisis de ausencia por periodos de tiempo muy cortos, a diferencia del ácido valproico que disminuyó la duración de las crisis de ausencia de la rata *taiep*, cabe mencionar que puede ser utilizado por periodos prolongados sin tener efectos adversos a largo plazo, cuando es administrado en dosis no mayores a 600 mg/Kg (Fagundes, 2008; Chen y cols., 2017).

El papel del metabolito succinato semialdehído en las crisis de ausencia aún es desconocido en modelos genéticos de crisis de ausencia, no obstante, existen estudios en ratones y en humanos que sugieren alteraciones en el metabolismo de GABA (Pearl y cols., 2011), en particular un decremento en la enzima succinato semialdehído deshidrogenasa (SSDH) genera que el succinato semialdehído se convierta en ácido *gamma*-hidroxibutírico (GHB) en lugar de ácido succínico, y esto conduce a una acumulación tanto de GHB como de GABA en el cerebro (Cortez y cols., 2004) activando los receptores fásicos intersinápticos GABAA en la neocorteza y a su vez a las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular talámico (Crunelli y cols., 2012). Adicionalmente, se ha reportado que la duración de las crisis de ausencia también depende de la inhibición

GABAérgica (Destexhe, 1999). Aunado al hecho de que se ha reportado una relación entre la deficiencia de mielina y altos niveles de succinato semialdehído en un modelo de ratones knockout (Donarum y cols., 2006). Por lo que podemos inferir que la disminución del metabolito succinato semialdehído por parte del ácido valproico contribuyó a la disminución en la duración de las crisis de ausencia de la rata *taiep* macho adulta.

El nivel sérico de los fármacos antiepilépticos ha sido estudiado en gran medida debido a la importancia que tiene en la farmacología de las crisis de ausencia, se ha reportado que existe un aumento rápido de los niveles séricos tras su absorción hasta alcanzar un pico máximo aproximadamente treinta minutos después de su administración, después disminuye en dos fases, una rápida derivada de la distribución en diferentes compartimentos corporales y una lenta debido al metabolismo y a su excreción renal (Targas Yacubian y cols., 2014). En humanos durante la administración oral de ácido valproico se reportó un pico máximo en los niveles séricos después de dos horas, seguido de una disminución exponencial en la fase rápida de aproximadamente una hora y una disminución lenta de dos horas (Perucca y cols., 1978). Por otra parte, en la rata se ha reportado que el pico máximo se encuentra después de treinta minutos seguido de una disminución rápida de una hora y una disminución lenta de hasta cuatro horas (Aly y Abdel-Latif, 1980). No obstante, existe poca correlación entre la dosis administrada y las concentraciones séricas del ácido valproico debido a que la existencia de uniones a distintas proteínas plasmáticas como la albumina que retrasan su excreción (Chapman y cols., 1982; Sabers y Petrenaite, 2008; Ferrendelli, 2014).

Es debido a los efectos-dosis dependientes y su farmacocinética que probablemente el ácido valproico en la dosis administrada de 600 mg/Kg logró disminuir la frecuencia, la duración y la latencia de las crisis de ausencia de manera significativa.

Existe una clara asociación entre las descargas espiga-onda y el sueño. En humanos, las crisis de ausencia aparecen usualmente en las transiciones de la vigilia al sueño y durante las primeras fases del sueño de ondas lentas mostrando un incremento máximo en las primeras horas de la mañana (Kostopoulos, 2000; Kellaway, 2014). En las ratas WAG/Rij y GAERS las descargas espiga-onda aparecen durante la vigilia quieta, en transiciones vigilia al sueño de ondas lentas o viceversa y algunas veces durante el sueño

de movimientos oculares rápidos (Danover y cols., 1998; Renier y Coenen, 2000; Coenen y Van Luijtelaaar, 2003). Se ha descrito que en la rata *taiep* los patrones sueño-vigilia se encuentran alterados a lo largo de 24 horas, mostrando un tipo de sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) reducido y fragmentado con mayor proporción en la fase de oscuridad con respecto a la fase de luz (Cortés, 2012), además se ha descrito una correlación en su estado de vigilia quieta y la expresión de las descargas espiga-onda. Esto podría explicar el hecho de que se encontró una disminución significativa de la duración de las crisis de ausencia en el periodo de luz en comparación con el periodo de oscuridad.

Además, se ha reportado que los pacientes con epilepsia experimentan diversos problemas para dormir, atribuidos principalmente a las crisis y a la acción de los fármacos antiepilépticos (Foldvary-Schaefer, 2002). Los fármacos antiepilépticos han mostrado tener varios efectos sobre la arquitectura del sueño, entre los cuales el ácido valproico ha modificado el patrón de sueño de humanos, incrementando la fase 1 y del sueño de ondas lentas y disminuyendo el sueño de movimientos oculares rápidos (Legros y Bazil, 2003), mientras que en otros estudios el ácido valproico estabilizo los estadios del sueño (Declerck y cols., 1985; Herman y cols., 2001; Zhang y cols., 2014).

11. CONCLUSIONES

El ácido valproico disminuyó las crisis de ausencia de la mutante de mielina *taiep*. Este perfil farmacológico es similar al de las crisis de ausencia en humanos, por lo que los mecanismos de inicio y mantenimiento de las descargas espiga-onda podrían ser similares a los de las ratas *taiep*.

1. La administración de ácido valproico a las dosis de 300 y 600 mg/Kg disminuyó la frecuencia de las crisis de ausencia.
2. La administración de ácido valproico en dosis de 300 y 600 mg/Kg disminuyó la duración de las crisis de ausencia.
3. La administración de ácido valproico en dosis de 300 y 600 mg/Kg disminuyó la latencia al primer evento de crisis de ausencia.
4. La administración de ácido valproico en la rata *taiep* disminuyó la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia durante el periodo de luz.
5. La administración de ácido valproico en la rata *taiep* disminuye la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia de manera dosis-dependiente.

12. BIBLIOGRAFÍA

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

Allen, A. N., Seminog, O. O. y Goldacre, M. J. (2013). Association between multiple sclerosis and epilepsy: Large population-based record-linkage studies. *BMC Neurology*, 13:2–7.

Aly, M. I. y Abdel-Latif, A. A. (1980). Studies on distribution and metabolism of valproate in rat brain, liver, and kidney. *Neurochemical Research*, 5:1231–1242.

Areque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. y Haydon, P. (1999). Tripartite synapses : glia, the unacknowledged partner. *Trends in Neuroscience*, 22:207–208.

Bertelsen, F., Landau, A. M., Vase, K. H., Jacobsen, J., Scheel-Krüger, J. y Møller, A. (2018). Acute in vivo effect of valproic acid on the GABAergic system in rat brain: A [11C]Ro15-4513 microPET study. *Brain Research*, 1680:110–114.

Bittigau, P., Sifringer, M., Genz, K., Reith, E., Pospischil, D., Govindarajalu, S., Dzierko, M., Pesditschek, S., Mai, I., Dikranian, K., Olney, J. W. y Ikonomidou, C. (2002). Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99:15089–15094.

Black, J. A., Fjell, J., Dib-Hajj, S., Duncan, I. D., O'Connor, L. T., Fried, K., Gladwell, Z., Tate, S. y Waxman, S. G. (1999). Abnormal expression of SNS/PN3 sodium channel in cerebellar Purkinje cells following loss of myelin in the *taiep* rat. *NeuroReport*, 10:913–918.

Blumenfeld, H. (2005). Cellular and network mechanisms of genetically-determined absence seizures. *Epilepsia*, 46:21–33.

Blumenfeld, H. (2012). Impaired consciousness in epilepsy. *The Lancet Neurology*, 11:814–826.

Brigo, F. y Igwe Stanley (2017). Ethosuximide , sodium valproate or lamotrigine for absence seizures in children and adolescents. *The Cochrane Library*, 1–14.

Brodie, M. J. y Yuen, A. W. C. (1997). Lamotrigine substitution study: Evidence for synergism with sodium valproate? *Epilepsy Research*, 26:423–432.

Burgess, D. L., Jones, J. M., Meisler, M. H. y Noebels, J. L. (1997). Mutation of the Ca²⁺-channel β subunit gene *Cchb4* is associated with ataxia and seizures in the lethargic (lh) mouse. *Cell*, 88:385–392.

Calabrese, M., De Stefano, N., Atzori, M., Bernardi, V., Mattisi, I., Barachino, L., Rinaldi, L., Morra, A., McAuliffe, M. M. J., Perini, P., Battistin, L. y Gallo, P. (2008). Extensive cortical inflammation is associated with epilepsy in multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, 255:581–586.

Callejas, C. (2009). Caracterización electrofisiológica y farmacológica de las crisis de ausencia en la mutante de mielina taiep. Tesis para obtener el grado de Médico Cirujano y Partero. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, pp 43.

Çavdar, S., Bay, H. H., Kirazli, Ö., Çakmak, Y. Ö. y Onat, F. (2013). Comparing GABAergic cell populations in the thalamic reticular nucleus of normal and genetic absence epilepsy rats from Strasbourg (GAERS). *Neurological Sciences*, 34:1991–2000.

Chapman, A., Keane, P. E., Meldrum, B. S., Simiand, J. y Vernieres, J. C. (1982). Mechanism of anticonvulsant action of valproate. *Progress in Neurobiology*, 19:315–359.

Chen, B., Choi, H., Hirsch, L. J., Katz, A., Legge, A., Buchsbaum, R. y Detyniecki, K. (2017). Psychiatric and behavioral side effects of antiepileptic drugs in adults with epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 76:24–31.

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

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

Corona, J. (2012). Caracterización de las crisis de ausencia en la rata ácido valproico y lamotrigina. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, pp 66.

Cortés, M. C. (2012). Estudio electroencefalografico de los episodios de inmovilidad en la rata taiep: Papel del sistema colinérgico. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México, pp 191.

Cortés, M. C., Gavito, B., Ita, M. L., Del, M. A. y Valencia, J. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on taiep rats. *Synapse*, 101:95–101.

Cortez, M. A., Wu, Y., Gibson, K. M. y Snead, O. C. (2004). Absence seizures in succinic semialdehyde dehydrogenase deficient mice: A model of juvenile absence epilepsy. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 79:547–553.

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., Cope, D. W. y Terry, J. R. (2011). Transition to absence seizures and the role of GABA receptors. *Epilepsy Research*, 97:283–289.

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, D. W. (2012). GABA-A Receptor Function in Typical Absence Seizures. en *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*, 1–17.

Cruz-Cruz, M. del R., Gallardo-Elías, J., Paredes-Solís, S., Legorreta-Soberanis, J., Flores-Moreno, M. y Andersson, N. (2017). Factores asociados a epilepsia en niños en México: un estudio caso-control. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México. Hospital Infantil de México Federico Gómez*, 74:334–340.

Czapinski, P., Blaszczyk, B. y Czuczwar, S. J. (2005). Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 5:3–14.

Danover, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M. y Marescaux, C. (1998). Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Progress in Neurobiology*, 55:27–57.

Declerck, A. C., Martens, W. L. J. y Wauquier, A. (1985). Evaluation of the effects of antiepileptic drugs on sleep-wakefulness patterns following 1 night total sleep deprivation in epileptic patients. *Neuropsychobiology*, 13:201–205.

Dedeurwaerdere, S., Van Raay, L., Morris, M. J., Reed, R. C., Hogan, R. E. y O'Brien, T. J. (2011). Fluctuating and constant valproate administration gives equivalent seizure control in rats with genetic and acquired epilepsy. *Seizure*, 20:72–79.

Destexhe, A. (1999). Can GABA_A conductances explain the fast oscillation frequency of absence seizures in rodents? *European Journal of Neuroscience*, 11:2175–2181.

Dezsi, G., Ozturk, E., Stanic, D., Powell, K. L., Blumenfeld, H. y Terence, J. (2013). Ethosuximide reduces epileptogenesis and behavioural comorbidity in the GAERS model of genetic generalised epilepsy. *Epilepsia*, 54:635–643.

Donarum, E. A., Stephan, D. A., Larkin, K., Murphy, E. J., Gupta, M., Senephansiri, H., Switzer, R. C., Pearl, P. L., Snead, O. C., Jakobs, C. y Gibson, K. M. (2006). Expression profiling reveals multiple myelin alterations in murine succinate semialdehyde dehydrogenase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 29:143–156.

Drinkenburg, W. H. I. M., van Luijckelaar, E. L. J. M., van Schaijk, W. J. y Coenen, A. M. L. (1993). Aberrant transients in the EEG of epileptic rats: A spectral analytical approach. *Physiology & Behavior*, 54:779–783.

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.

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.

Dutuit, M., Didier-Bazes, M., Vergnes, M., Mutin, M., Conjard, A., Akoaka, H., Belin, M. F. y Touret, M. (2000). Specific alteration in the expression of glial fibrillary acidic protein,

glutamate dehydrogenase, and glutamine synthetase in rats with genetic absence epilepsy. *Glia*, 32:15–24.

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

Eguibar, J. R., Cortés, M. C., Araceli, U. y Alicia, L. C. (2014). The myelin mutant rat taiep as a model of neuroimmunological disease. *Advances in Neuroimmune Biology*, 5:9–17.

Eguibar, J. R. y Cortés, M. del C. (2010). El mutante de mielina taiep como un modelo de crisis de ausencia. *Gaceta Médica de Mexico*, 11–18.

Fagundes, S. B. R. (2008). Valproic acid: Review. *Revista Neurociencias*, 16:130–136.

Ferrendelli, J. (2014). Pharmacology of antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 8:1–40.

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.

Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P. y Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46:470–472.

Flórez, J., Armijo, J. and Mediavilla, A. (2014). *Farmacología humana*. 6th ed. Barcelona, pp.476-502.

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.

Foldvary-Schaefer, N. (2002). Sleep complaints and epilepsy: The role of seizures, antiepileptic drugs and sleep disorders. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 19:514–521.

Garcia-Pedroza, F., Millán, R. y Peñaloza, Y. (2010). Epidemiología clínica de la epilepsia. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 11:82–102.

Glauser, T. A., Cnaan, A., Shinnar, S., Hirtz, D. G., Dlugos, D., Masur, D., Clark, P. O. y Peter, C. (2014). Absence epilepsy: Initial monotherapy outcomes at 12 months. *Epilepsia*, 54:141–155.

Gurbanova, A. A., Aker, R., Berkman, K., Onat, F. Y., Van Rijn, C. M. y Van Luijtelaar, G. (2006). Effect of systemic and intracortical administration of phenytoin in two genetic models of absence epilepsy. *British Journal of Pharmacology*, 148:1076–1082.

Herman, S. T., Walczak, T. S. y Bazil, C. W. (2001). Distribution of partial seizures during the sleep-wake cycle. *Neurology*, 56:1453–1459.

Higgins, G. A., Breysse, N., Undzys, E., Derksen, D. R., Jeffrey, M., Scott, B. W., Xin, T., Roucard, C., Bressand, K., Depaulis, A. y Burnham, W. M. (2010). Comparative study of five antiepileptic drugs on a translational cognitive measure in the rat: Relationship to antiepileptic property. *Psychopharmacology*, 207:513–527.

Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L. y Vega-Saenz de Miera, E. C. (1989). Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Laboratory Animal Science*, 39:226–228.

Ibarra-Hernández, J. M. (2018). Participación del sistema GABAérgico en las crisis de ausencia en ratas taiep macho adultas. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benémerita Universidad Autónoma de Puebla, pp 85.

Johannessen, C. U. y Johannessen, S. I. (2003). Valproate : Past , present , and future mechanisms of action. *CNS Drugs Reviews*, 9:199–216.

Kammerer, M., Rassner, M. P., Freiman, T. M. y Feuerstein, T. J. (2011). Effects of antiepileptic drugs on GABA release from rat and human neocortical synaptosomes. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 384:47–57.

Kellaway, P. (2014). Sleep and Epilepsy. *Encyclopedia of the Neurological Sciences*, 26:188–191.

Kelly, K. M., Gross, R. A. y Macdonald, R. L. (1990). Valproic acid selectively reduces the low-threshold (T) calcium current in rat nodose neurons. *Neuroscience Letters*, 116:233–238.

Klioueva, I. a, van Luijtelaa, 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.

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*, 111:27–38.

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.

Large, C. H., Kalinichev, M., Lucas, A., Carignani, C., Bradford, A., Garbati, N., Sartori, I., Austin, N. E., Ruffo, A., Jones, D. N. C., Alvaro, G. y Read, K. D. (2009). The relationship between sodium channel inhibition and anticonvulsant activity in a model of generalised seizure in the rat. *Epilepsy Research*, 85:96–106.

Legros, B. y Bazil, C. (2003). Effects of antiepileptic drugs on sleep architecture: a pilot study. *Sleep Medicine*, 4:51–55.

Leite, J. P. y Cavalheiro, E. A. (1995). Effects of conventional antiepileptic drugs in a model of spontaneous recurrent seizures in rats. *Epilepsy Res.*, 20:93–104.

León-Chávez, B. A., Guevara, J., Galindo, S., Luna, J., Ugarte, A., Villegas, O., Mena, R., Eguibar, J. R. y Martinez-Fong, D. (2001). Regional and temporal progression of reactive astrogliosis in the brain of the myelin mutant taiep rat. *Brain Research*, 900:152–155.

Leresche, N., Parri, H. R., Erdemli, G., Guyon, A., Turner, J. P., Williams, S. R., Asprodingi, E. y Crunelli, V. (1998). On the action of the anti-absence drug ethosuximide in the rat and cat thalamus. *The Journal of neuroscience*, 18:4842–4853.

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 Ca²⁺-channel γ subunit. *Nature Genetics*, 19:340–347.

Llinas, R. R. y Steriade, M. (2006). Bursting of thalamic neurons and states of vigilance. *Journal of Neurophysiology*, 95:3297–3308.

López-Hernández, E., Bravo, J. y Solís, H. (2005). Epilepsia y antiepilépticos de primera y segunda generación. Aspectos básicos útiles en la práctica clínica. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM.*, 48:201–209.

Löscher, W. (1993). Effects of the antiepileptic drug valproate on metabolism and function of inhibitory and excitatory amino acids in the brain. *Neurochemical Research*, 18:485–502.

Löscher, W. (1998). New visions in the pharmacology of anticonvulsion. *European Journal of Pharmacology*, 1–13.

Löscher, W., Böhme, G., Schäfer, H. y Kochen, W. (1981). Effect of metabolites of valproic acid on the metabolism of GABA in brain and brain nerve endings. *Neuropharmacology*, 20:1187–1192.

van Luijtelaar, E. L. J. M., Ates, N. y Coenen, A. M. L. (1995). Role of L-Type calcium channel modulation in nonconvulsive epilepsy in rats. *Epilepsia*, 36:86–92.

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.

Lunn, K. F., Clayton, M. K. y Duncan, I. D. (1997a). The temporal progression of the myelination defect in the taiep rat. *Journal of Neurocytology*, 26:267–281.

Lunn, K. F., Clayton, M. K. y Duncan, I. D. (1997b). The temporal progression of the myelination defect in the taiep rat. *Journal of Neurocytology*, 26:267–281.

Macdonald, R. L. y Bergey, G. K. (1979). Valproic acid augments GABA-mediated postsynaptic inhibition in cultured mammalian neurons. *Brain Research*, 170:558–562.

Macdonald, R. L. y Kelly, K. M. (2004). Antiepileptic drug mechanisms of action. *Epilepsia*, 6:S2–S12.

Marescaux, C. y Vergnes, M. (1995). Genetic Absence Epilepsy in Rats from Strasbourg (GAERS). *The Italian Journal of Neurological Sciences*, 16:113–118.

McLean, M. J. y Macdonald, R. L. (1986). Sodium valproate, but not ethosuximide, produces use- and voltage- dependent limitation of high frequency repetitive firing of action potentials of mouse central neurons in cell culture. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*, 237:1001–1011.

Meeren, H. K. M., Pijn, J. P. M., van Luijcklaar, E. L. J. M., Coenen, A. M. L. y Lopes da Silva, F. H. (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *The Journal of Neuroscience*, 22:1480–1495.

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.

Noebels, J.L. (1984). A single gene error of noradrenergic axon growth synchronizes central neurons. *Nature*, 310: 409-411

Nejad, G. G., Vastyanov, R. S., Shahabi, P., Alipoor, M. R. y Pakdel, F. G. (2015). Abnormalities in the GABAergic inhibitory system leading to the development of spike-wave discharges in the somatosensory cortex of WAG/Rij Rats. *Neurophysiology*, 47:454–458.

Paxinos, G., Watson, C., (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th ed. Academic Press, New York.

Panayiotopoulos, C. P. (2001). Treatment of typical absence seizures and related epileptic syndromes. *Paediatr Drug*, 3:379–403.

Pearl, P. L., Shukla, L., Theodore, W. H., Jakobs, C. y Michael Gibson, K. (2011). Epilepsy in succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency, a disorder of GABA metabolism. *Brain and Development. The Japanese Society of Child Neurology*, 33:796–805.

Perucca, E. (2002). Pharmacological and therapeutic properties of valproate: a summary after 35 years of clinical experience. *CNS drugs*, 16:695–714.

Perucca, E., Gatti, G., Frigo, G. M. y Crema, A. (1978). Pharmacokinetics of valproic acid after oral and intravenous administration. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 5:313–318.

Piplani, S., Verma, P. K. y Kumar, A. (2016). Neuroinformatics analyses reveal GABA-t and SSADH as major proteins involved in anticonvulsant activity of valproic acid. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 81:402–410.

Programa Prioritario de Epilepsia (2014) tomado de la página electrónica: <http://www.epilepsiamexico.gob.mx>

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.

Renier, W. y Coenen, A. M. L. (2000). Human absence epilepsy: The WAG/Rij as a model. *Neuroscience Research Communications*, 26:181–190.

Van Rijn, C. M., Sun, M. S., Deckers, C. L. P., Edelbroek, P. M., Keyser, A., Renier, W. y Meinardi, H. (2004). Effects of the combination of valproate and ethosuximide on spike wave discharges in WAG/Rij rats. *Epilepsy Research*, 59:181–189.

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.

Sabers, A. y Petrenaitė, V. (2008). Pharmacokinetics of antiepileptic drugs. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 1:129–136.

Sarkisian, M. R. (2001). Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. *Epilepsy and Behavior*, 2:201–216.

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

Soto-Rodriguez, G., Gonzalez-Barrios, J. A., Martinez-Fong, D., Blanco-Alvarez, V. M., Eguibar, J. R., Ugarte, A., Martinez-Perez, F., Brambila, E., Millán-Perez Peña, L., Pazos-Salazar, N. G., Torres-Soto, M., Garcia-Robles, G., Tomas-Sanchez, C. y Leon-Chavez, B. A. (2015). Analysis of chemokines and receptors expression profile in the myelin mutant taiep rat. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015:1-8.

Stephen, L. J. y Brodie, M. J. (2012). Antiepileptic drug monotherapy versus polytherapy. *Current Opinion in Neurology*, 25:164–172.

Steriade, M., Deschênes, M., Domich, L. y Mulle, C. (1985). Abolition of spindle oscillations in thalamic neurons disconnected from nucleus reticularis thalami. *Journal of Neurophysiology*, 54:1473–1497.

Targas Yacubian, E. M., Guilca, C. y Rios-Pohl, L. (2014). Tratamiento farmacológico de las epilepsias, pp 297.

Totolyan, N. A., Borisova, E. V., Totolyan, A. A., Milyukhina, I. V., Lapin, S. V., Kodzaeva, A. Y., Prakhova, L. N., Evdoshenko, E. P., Kairbekova, E. I. y Skoromets, A. A. (2012). Symptomatic epilepsy in inflammatory demyelinating diseases. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 42:223–235.

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., Snutch, T. P. y Tringham et al., 2012 (2012). T-type calcium channel blockers that attenuate thalamic burst firing

and suppress absence seizures. *Epilepsy Research*, 4:121ra19-121ra19.

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.

Zhang, H., Li, Y., Li, X., Liu, G., Wang, B. y Li, C. (2014). Effect of sodium valproate on the sleep structures of epileptic patients. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 7:1227–1232.