



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Papel de la testosterona en las crisis de ausencia de la rata *taiep***

TESIS DE MAESTRÍA

PRESENTA:

Lic. en Biología: Rubén Castillo Lazcano

DIRECTORA:

Dra. Angélica Trujillo Hernández

CODIRECTORA:

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez



FEBRERO 2023



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

H. Puebla de Z. a 01 de febrero de 2023

Asunto: Voto Aprobatorio

Comité Académico del Posgrado  
PRESENTE

Por medio de la presente se hace constar que se revisó y aprobó la tesis titulada:

**“Papel de la testosterona en las crisis de ausencia de la rata *taiep*”**

Que presenta el estudiante **Rubén Castillo Lazcano** con número de matrícula **220470524**, aspirante al grado de **Maestro en Ciencias Biológicas**, de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: **“Estructura y Funcionamiento de los Seres Vivos”**, notificamos que la tesis reúne los requisitos y se aprueba para su réplica oral en el examen de grado.

Por lo tanto, emitimos los **VOTOS APROBATORIOS** como miembros del **Comité de Jurado de Examen de Grado** como a continuación se indica:

Tutor Interno: **Dra. Adriana Berenice Silva Gómez**

Tutor Externo: **Dr. Eduardo Monjaraz Gumán**

Revisor: **Dr. Jorge Alejandro Cebada Ruiz**

Agradecemos de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.



## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y DE NO PLAGIO

Yo **Rubén Castillo Lazcano** con número de matrícula **220470524**, aspirante al grado de **Maestro en Ciencias Biológicas** por la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla** y autor de la tesis titulada **“Papel de la testosterona en las crisis de ausencia de la rata *taiep*”**.

DECLARO LO SIGUIENTE:

Que el presente trabajo de investigación, tema de tesis presentada para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas es **original**, siendo **resultado de mi trabajo personal**, que **no ha sido copiado**, que no se han utilizado ideas, formulaciones, citas completas *“sensu strictu”* e ilustraciones diversas sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc. (en versión digital o impresa) sin mencionar de forma clara su origen y autor, tanto en el cuerpo del texto como en las figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

Que el trabajo de investigación que pongo a consideración para evaluación no se ha presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni se ha publicado en sitio alguno. En este sentido tengo plena consciencia de que el hecho de no respetar los derechos de autor y el plagiar un trabajo, son objeto de sanciones universitarias y/o legales. Por lo anterior **asumo completamente cualquier responsabilidad** (ante la universidad y ante terceros) que pudiera derivarse de alguna irregularidad en este trabajo de tesis, así como en los derechos de este.

H. Puebla de Z. a 1 de febrero de 2023



---

Biol. Rubén Castillo Lazcano

**Agradecimientos**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgar la beca No.1083088 para la realización de esta tesis.

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo brindado en la realización de esta tesis.

Agradezco a la Facultad de Ciencias Biológicas y la Maestría en Ciencias Biológicas incluida en el PNPC (Clave 005671) por permitirme realizar mis estudios de Maestría.

Agradezco al Laboratorio de Fisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología por permitirme realizar el proyecto de investigación de esta tesis.

Agradezco al proyecto PRONACES-CONACYT 194171 por financiar parcialmente este trabajo.

Agradezco al Cuerpo Académico Consolidado en Neuroendocrinología BUAP-CA-288 y a la VIEP-BUAP 2021-2022 por financiar parcialmente este trabajo.



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.

También agradezco a la Dra. Angélica Trujillo Hernández por dirigir y apoyar constantemente mi trabajo de tesis, y a los integrantes del Laboratorio de Neuroendocrinología. A mi comité tutorial: Dra. Berenice Silva Gómez, Dr. Eduardo Monjaraz Guzmán y Dr. Jorge Alejandro Cebada Ruiz por las observaciones y contribuciones realizadas a la tesis y mi formación en esta área de investigación.

A Dios, a mis padres Idalid Lazcano y Wuilbert Castillo por creer en mí cuando decidí lo que quería estudiar, por su eterno apoyo económico, espiritual y su amor brindado. A mis hermanos Daniel y Mauricio, a mis amigos Alan, Diego, Xavi, Kary y May por el apoyo, y los buenos momentos. A mi Dyanne, mi novia, por su apoyo y amor durante momentos difíciles y comprensión cuando estaba estresado.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor: Adriela, Lily, Juan Carlos (el padrino), Adriana, Karely, Salvador, Juan, Alfonso, Europa y Kelly por su apoyo, conocimiento, seminarios y risas durante mi estancia en el laboratorio. A la M. en C. Araceli Ugarte 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.

## Lista de abreviaturas

AP	Anteroposterior
Cx	Corteza cerebral
DEO	Descarga espiga-onda
EEG	Electroencefalograma
EMG	Electromiograma
EOG	Electrooculograma
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GABAA	Receptor de GABA tipo a
GABAB	Receptor de GABA tipo b
GABAC	Receptor de GABA tipo c
GABA-T	GABA transaminasa
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg
GAM	Glicoproteína asociada a la mielina
GluA	Ácido glutámico
HP	Hipocampo
i.p.	Intraperitoneal
ILAE	International League Against Epilepsy
LH	Hormona luteinizante
PBM	Proteína básica de la mielina
PPL	Proteína proteolipídica
SSA	Succinato semialdehído
SSADH	Succinato semialdehído deshidrogenasa
SNC	Sistema Nervioso Central
s.c.	Subcutánea
WAG/Rij	Wistar albino Glaxo/ Rijswijk

## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
EPIDEMIOLOGÍA Y PREVALENCIA DE LA EPILEPSIA .....	3
IMPACTO ECONÓMICO Y SOCIAL DE LA EPILEPSIA .....	3
CLASIFICACIÓN DE LA EPILEPSIA .....	4
CRISIS DE AUSENCIA.....	6
PARTICIPACIÓN DE GABA EN LAS CRISIS DE AUSENCIA.....	7
HORMONAS .....	12
HORMONAS SEXUALES.....	13
NEUROESTEROIDES.....	19
LOS MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE LAS CRISIS DE AUSENCIA .....	21
<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>30</b>
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>33</b>
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>33</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
GENERAL.....	33
PARTICULARES .....	33
<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>35</b>
SUJETOS EXPERIMENTALES.....	35
CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA.....	36
ORQUIECTOMÍA.....	37
OVARIECTOMÍA .....	38
HABITUACIÓN PRE-REGISTRO .....	38
REGISTRO ELECTROENCEFALOGRAFICO .....	39
CRITERIOS DE IDENTIFICACIÓN DE LAS DESCARGAS ESPIGA-ONDA .....	40
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	41

<b>RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
EFECTO DEL PROPIONATO DE TESTOSTERONA EN LA FRECUENCIA, DURACIÓN Y LATENCIA DE LAS DESCARGAS ESPIGA-ONDA EN MACHOS ORQUIECTOMIZADOS. ....	42
EFECTO DEL PROPIONATO DE TESTOSTERONA EN EL NÚMERO TOTAL DE CRISIS DE AUSENCIA EN MACHOS ORQUIECTOMIZADOS. ....	44
EFECTO DEL PROPIONATO DE TESTOSTERONA EN EL PERIODO INTERCRISIS DE MACHOS ORQUIECTOMIZADOS.....	45
EFECTO DEL PROPIONATO DE TESTOSTERONA EN LA FRECUENCIA, DURACIÓN Y LATENCIA DE LAS DESCARGAS ESPIGA-ONDA EN HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS. ....	46
EFECTO DEL PROPIONATO DE TESTOSTERONA EN EL NÚMERO TOTAL DE DESCARGAS ESPIGA-ONDA EN HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS. ....	49
EFECTO DEL PROPIONATO DE TESTOSTERONA EN EL PERIODO INTERCRISIS EN HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS. ....	50
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>52</b>
ROL DE LA TESTOSTERONA EN LAS DESCARGAS ESPIGA-ONDA EN MACHOS ORQUIECTOMIZADOS.....	52
ROL DE LA TESTOSTERONA EN LAS DESCARGAS ESPIGA-ONDA EN HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS. ....	57
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>61</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>80</b>
PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS NACIONALES .....	80
PARTICIPACIÓN EN CONGRESO INTERNACIONAL .....	82
ACTIVIDADES DE DIVULGACIÓN .....	83

## Resumen

Las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia generalizada caracterizada por la presencia de descargas espiga-onda (DEO) en el electroencefalograma y episodios de pérdida transitoria de la consciencia. La frecuencia predominante de las DEO oscila entre los 2.5 a 4 Hz. Se ha observado que este tipo de descargas se encuentran presentes en la rata *taiep* un mutante de tubulinas.

La rata *taiep* presentan un síndrome motor caracterizado por temblor, ataxia, episodios de inmovilidad, epilepsia y parálisis. Adicionalmente, son el primer modelo animal de la leucodistrofia humana llamada hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC), debido a que presenta una mutación puntual en el gen de la tubulina  $\beta$  4A (TUBB4A). La rata muestra hipomielinización inicial con ventriculomegalia al evaluar en imágenes de resonancia magnética. Las crisis de ausencia en la rata *taiep* se presentan de manera sexualmente dimórfica, en los machos se presentan a partir de los tres meses y en las hembras hasta los seis meses. En trabajos anteriores de este laboratorio, se ha reportado que la orquiectomía neonatal disminuye significativamente la incidencia de las DEO, mientras que, ocurre lo contrario cuando la orquiectomía se realiza en la edad adulta. Por lo que se ha propuesto que la testosterona tiene un papel modulador de las DEO.

El objetivo de este trabajo fue el de evaluar el efecto de la testosterona sobre las crisis de ausencia de la rata *taiep* macho adulto y en la rata *taiep* hembra adulta.

Se emplearon ratas *taiep* macho orquiectomizadas de 6 meses de edad y ratas hembra *taiep* ovariectomizadas a los 6 meses de edad, las cuales fueron implantadas mediante cirugía estereotáxica para el registro EEG, EOG y EMG. Posteriormente, se realizaron dos registros electroencefalográficos acoplados a un sistema de videograbación durante 24h a cada rata; registro control después de la administración s.c. de aceite de oliva 1 ml/Kg y un segundo registro tras la administración s.c. de 2 mg/Kg de propionato de testosterona (PT). Se evaluó la frecuencia, la duración y la latencia al primer evento de crisis de ausencia, así como el periodo intercrisis y el número total de crisis de ausencia en todos los registros. Se consideró una diferencia significativa cuando la probabilidad fue de 0.05 o menos.

Nuestros resultados muestran que la administración de 2 mg/Kg de PT en las ratas macho orquiectomizadas aumentó significativamente la duración de las crisis de ausencia hasta en un 39.4% a las 07:00 ( $P < 0.001$ ). Además, se obtuvo una tendencia al aumento en la frecuencia de las crisis de ausencia, cuando se administró el PT.

En el caso de las ratas hembra ovariectomizadas, obtuvimos un aumento significativo de un 21.27% a las 11:00 ( $P < 0.001$ ) en la duración de las crisis de ausencia en el grupo con PT. Mientras que, en la frecuencia obtuvimos un aumento significativo solamente a las 19:00 ( $P < 0.05$ ). Sin cambios en la latencia, en el número total de crisis y en el periodo intercrisis.

En conclusión, la administración de PT fue capaz de incrementar la duración de las crisis de ausencia en machos y en hembras *taiep*, además de aumentar los periodos intercrisis en machos y disminuirlos en las hembras. Este trabajo muestra que la testosterona es capaz de modular el circuito tálamo-cortical y participar en el inicio y desarrollo de las crisis de ausencia en este modelo animal.

**Palabras clave:** Epilepsia, Salud, GABA, Hormona, Dimorfismo.

## Introducción

La epilepsia es un trastorno cerebral caracterizado por la expresión de crisis recurrentes no provocadas (Fisher y cols., 2014). Es una de las enfermedades neurológicas no transmisibles más comunes en el mundo y la cual genera consecuencias adversas, cognitivas, psicológicas y sociales. Sus causas son múltiples y su fisiopatología aún no se conoce del todo, es por ello que la investigación científica representa una de las estrategias recomendadas por la Organización Mundial de la Salud para resolver el grave problema de salud pública que representa la epilepsia (Organización Mundial de la Salud, 2019).

### Epidemiología y prevalencia de la epilepsia

Según cifras de la Organización Mundial de la Salud se calcula que existen alrededor de 50 millones de personas en el mundo con epilepsia, de los cuales, el 80% se encuentran en países de ingresos bajos a medios. De hecho, cada año se registran aproximadamente 2.4 millones de casos nuevos, se estima que 7.6 de cada 1,000 personas tienen epilepsia en algún momento de su vida (Organización Mundial de la Salud, 2015). En México se calcula que existen alrededor de 2 millones de casos de epilepsia (García-Pedroza y cols., 2010), tan sólo en la Ciudad de México la prevalencia es de 10-20 casos por cada 1,000 habitantes (Valdés-Galván y cols., 2019).

Es una enfermedad que afecta a gran parte de la población del mundo (Acevedo y Miranda, 2008). En su mayoría, afecta a niños, jóvenes y mayores de 60 años, y a hombres más que a las mujeres (McHugh y Delanty, 2008; Kestel y cols., 2013; OMS, 2015).

### Impacto económico y social de la epilepsia

Tradicionalmente ha existido un problema de discriminación y de violación de los derechos humanos asociados a las personas que padecen epilepsia, principalmente por falta de medicamentos, carencia de recursos económicos, acceso a un servicio médico de calidad, además de las ideas erróneas y falta de información sobre esta

enfermedad neurológica, generando así discriminación y estigmatización. A pesar de que existen gran variedad de medicamentos de bajo costo para controlar la epilepsia, más del 75% de las personas con epilepsia en países de ingresos medio-bajos no tienen acceso a un tratamiento seguro y eficaz (Organización Mundial de la Salud, 2019). Lo que conlleva a un grave problema de discapacidad laboral, trastornos psiquiátricos, aislamiento social y en algunos casos la muerte (Organización Mundial de la Salud, 2019).

En Europa del oeste se calcula que el gasto económico total asociado a todos los pacientes con epilepsia es de alrededor de 20 millones de euros al año (Organización Mundial de la Salud, 2015), mientras que según cifras del Programa Prioritario para la Epilepsia en México el gasto económico asociado a la epilepsia es de \$60,000.00 por paciente al año (PPE, 2014).

### Clasificación de la epilepsia

La definición operacional de epilepsia tiene sustrato en la definición de crisis, esta se define como la aparición transitoria de signos o síntomas debido a actividad neuronal excesiva y sincrónica en la corteza cerebral (Fisher y *co/s.*, 2017). La Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE, de sus siglas en inglés), el cual es un organismo internacional que se encarga de brindar un marco normativo para la clasificación de la epilepsia, ha propuesto una clasificación en el año 2017 basada en las manifestaciones clínicas, en sus aspectos electroencefalográficos, en su posible sustrato anatómico y con una base comportamental (Figura 1).

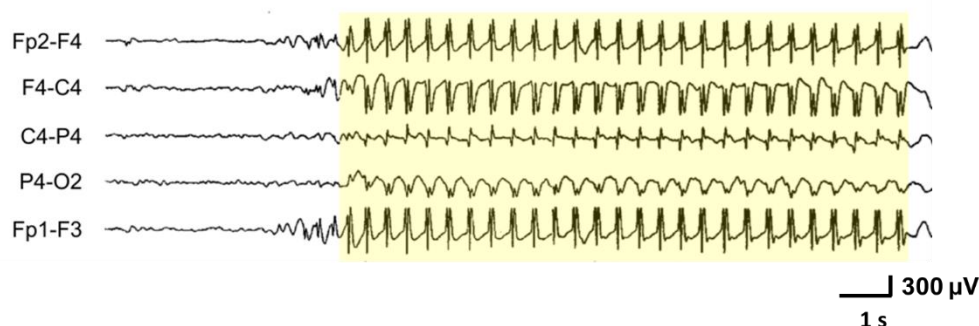


**Figura 1. Clasificación extendida de los tipos de crisis epilépticas por la Liga Internacional contra la Epilepsia 2017.** Se clasifica a las crisis de acuerdo a su origen, el estado de conciencia, y a los signos motores y no motores que se presentan. Modificado de Fisher y cols., 2017.

La clasificación utiliza el origen de la crisis y con base en esto, se dividen en aquellas que son de origen focal, generalizado o de origen desconocido. Las crisis focales se dividen a su vez en aquellas en las que existe una pérdida de la conciencia y aquellas en las que la conciencia permanece inalterada, además se pueden distinguir en aquellas que presentan signos motores y no motores. De manera similar las crisis generalizadas se pueden clasificar en aquellas que presentan signos motores y aquellas sin manifestación motora. Finalmente, las crisis de origen desconocido se pueden clasificar en aquellas que presentan signos motores y aquellas que no tienen signos motores (Fisher y cols., 2017).

## Crisis de ausencia

Las crisis de ausencia típicas son un tipo de epilepsia generalizada, clasificada en el grupo de las crisis no motoras, las cuales poseen como rasgo característico, la presencia de descargas corticales del tipo espiga-onda con una frecuencia de 2.5 a 4 Hz, presentes en todos los canales del electroencefalograma, asociadas con periodos de pérdida de la conciencia, las cuales pueden ir o no acompañadas de signos motores como fasciculaciones, mioclonías o signos autónomos como sudoración, salivación y palpitaciones. Adicionalmente, algunos pacientes permanecen con la mirada fija y no tienen respuesta a estímulos medio ambientales (Posner, 2013; Fisher, Cross, D'Souza, y cols., 2017), (Figura 2).

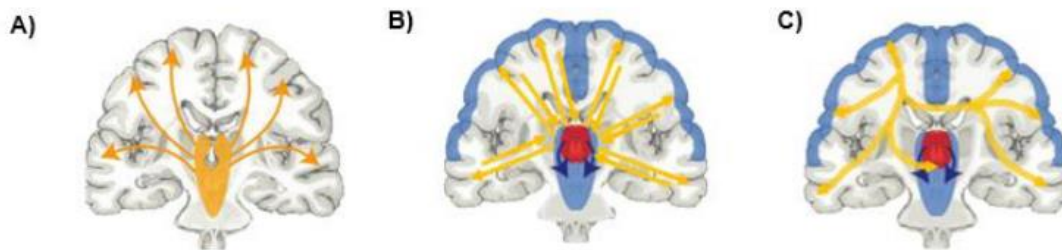


**Figura 2. Patrón característico de descargas espiga-onda durante una crisis de ausencia en el humano.** Registro electroencefalográfico de un niño de 8 años. Note el patrón de descarga espiga-onda señalado en color amarillo. Las abreviaturas **Fp2**= Frontal polar 2, **F4**=Frontal 4, **C4**= Corteza 4, **P4**= Parietal 4, **O2**= Occipital 2, **Fp1**= Frontal polar 1, y **F3**= Frontal 3, corresponden a la colocación de los electrodos de registro. Modificado de Panayiotopoulos, 2001.

Este tipo de crisis se presenta en mayor medida durante la infancia, la edad de inicio de las crisis se encuentra entre los 3 y los 13 años de edad, y se exacerban entre los 6 y 7 años (Posner, 2014). No obstante, las crisis de ausencia infantiles suelen desaparecer espontáneamente en el 75% de los niños, cuando llegan a la adolescencia (Friedman and Sharieff, 2006; Posner, 2014; Fine y Wirrell, 2020). Por lo que se hipotetiza que la activación hormonal durante la adolescencia podría producir una mejora en el curso de la enfermedad (Posner, 2014; Fine y Wirrell, 2020).

Las crisis de ausencia son de origen idiopático, es decir no se conoce la causa específica de dicha patología. A lo largo de la historia se han propuesto tres hipótesis que tratan de explicar el origen de las oscilaciones espiga-onda

características de las crisis de ausencia. Penfield y Jasper en 1954 propusieron la teoría “*centroencefálica*” en la cual se hipotetiza que las crisis tienen un origen subcortical-talámico, las cuales presentaban apariencia sincrónica bilateral además de poseer un retraso de 1-2 segundos en la corteza cerebral (Penfield y Jasper, 1954). Unos años más tarde, en 1968, Gloor propuso que el origen de las descargas espiga-onda subyace en la formación reticular del tallo cerebral, pudiendo ser el resultado de alguna falla en el control de la retroalimentación negativa normal de las vías cortico-reticulares, por lo que esta hipótesis es generalmente llamada “*reticular*” (Gloor, 1968). Finalmente, Niedmeyer propuso que el foco epiléptico tiene lugar en la corteza somatosensorial y de esta se propaga hacia otras áreas corticales, además del tálamo el cual sostiene la ritmicidad de las descargas espiga-onda (Niedermeyer, 1996: véase Figura 3).

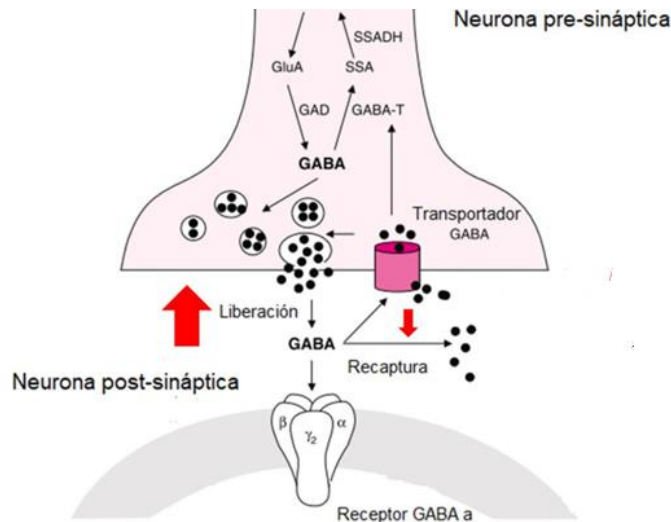


**Figura 3. Hipótesis sobre el origen de las descargas espiga-onda. A)** La hipótesis centroencefálica propone un origen subcortical-talámico de las descargas, la cual fue propuesta por Penfield en 1958. **B)** La hipótesis cortico-reticular propone un origen en las estructuras reticulares del tallo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

## Participación de GABA en las crisis de ausencia

El ácido gamma-aminobutírico (GABA), principalmente a través del receptor GABA<sub>A</sub> es el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC) en los mamíferos (Purves, 2018). Es sintetizado por la enzima glutamato descarboxilasa (GAD, de sus siglas en inglés) a partir del ácido glutámico (GluA). (GABA-T; Purves, 2018; véase Figura 4). Una vez sintetizado, GABA es transportado mediante vesículas sinápticas transportadoras de aminoácido inhibitorio y liberado hacia las

hendiduras sinápticas donde se puede unir a los receptores postsinápticos. Finalmente, es degradado por la acción de la enzima glutamato transaminasa a semialdehído succínico, además también puede ser recapturado para ser utilizado por la neurona presináptica.



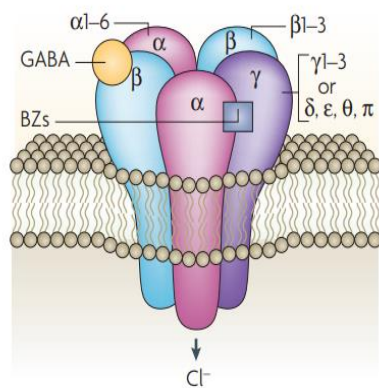
**Figura 4. Representación esquemática de la síntesis, liberación, unión del ácido gamma-aminobutírico a la neurona post-sináptica a través del receptor GABA<sub>a</sub> y metabolismo.** El neurotransmisor GABA es sintetizado por la acción enzimática de glutamato descarboxilasa (GAD) sobre el ácido glutámico (GluA). Es liberado al espacio intersináptico a través de vesículas donde se puede unir al receptor de la neurona postsináptica usualmente del de tipo GABA<sub>a</sub>. El metabolismo de GABA comienza con su recaptura por parte de la neurona presináptica, posteriormente es metabolizado por la enzima GABAtransaminasa (GABA-T) y convertido a succinato semialdehído (SSAH).

La neurotransmisión inhibitoria mediada por GABA es posible gracias a que los tres receptores postsinápticos que posee:

- **Receptor de GABA<sub>a</sub>:** Es un receptor de tipo ionotrópico y en su estado conformacional abierto, es permeable al ión cloruro (Cl<sup>-</sup>). Estructuralmente es un canal pentamérico formado por cinco unidades proteicas, el cual tiene amplia distribución en el sistema nervioso central. Cuando el neurotransmisor GABA se une al receptor GABA<sub>a</sub>, provoca la apertura del canal, generando la entrada del ión Cl<sup>-</sup>, produciendo una hiperpolarización en la neurona, inhibiendo futuros potenciales de acción. La sensibilidad y la actividad del canal, puede ser modulada por ciertos fármacos con afinidad a sus

subunidades (fenómeno conocido como regulación alostérica), entre los cuales, las benzodiazepinas y la bicuculina son los más conocidos (Bormann, 2000; Medel y cols., 2011; Purves, 2018 véase figura 5).

- **Receptor de GABA<sub>b</sub>:** Es un receptor de tipo metabotrópico, es decir, acoplado a una proteína G<sub>i</sub>, asociado a canales iónicos de potasio (K<sup>+</sup>) y al ion calcio (Ca<sup>2+</sup>). Se encuentra distribuido en todo el SNC (Bormann, 2000; Pinard y cols., 2010; Evenseth y cols., 2020).
- **Receptor de GABA<sub>c</sub>:** Al igual que GABA<sub>a</sub> es un receptor de tipo ionotrópico formado por 5 subunidades, (pero en este caso las subunidades son iguales), y se expresa en mayor medida en la retina de los vertebrados, aunque puede encontrarse en todo el SNC (Qian y Ripps, 2009; Berridge, 2014).



**Figura 5. Estructura del receptor GABA<sub>a</sub>.** Cinco subunidades pertenecientes a distintas subfamilias se ensamblan para formar el canal heteropentamérico permeable a Cl<sup>-</sup>. Dentro de las subunidades que conforman al receptor encontramos a α<sub>1-6</sub> β<sub>1-3</sub>, γ<sub>1-3</sub>, δ y θ. Tomado de Purves, 2018.

El neurotransmisor GABA ha sido descrito como el principal neurotransmisor implicado en el inicio y mantenimiento de las crisis de ausencia, principalmente contribuyendo al decremento en la inhibición fásica del receptor GABA<sub>A</sub> en la corteza, lo cual contribuye al desarrollo de descargas paroxísticas de frecuencias entre 5 a 9 Hz. en la corteza somatosensorial, excitando a las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular talámico (NRT), las cuales inhiben a las neuronas tálamo-corticales (Danober y cols., 1998; Crunelli y cols., 2011). La inhibición tónica persistente en las neuronas tálamo-corticales, induce una interrupción en las

sinapsis sensoriales de la corteza cerebral, disminuyendo la respuesta a los estímulos externos (Crunelli y cols., 2011). Esta doble inhibición mediada a través del receptor GABA<sub>A</sub> parece ser la clave para entender la fisiopatología de las crisis de ausencia.

Por tanto lo tanto, la administración de fármacos antagonistas y moduladores alostéricos del receptor GABA<sub>A</sub> es uno de los principales blancos de los fármacos que poseen actividad supresora de las crisis de ausencia (Targas Yacubian y cols., 2014: Véase tabla 1).

**Tabla 1. Principales moduladores del receptor GABA<sub>A</sub>**

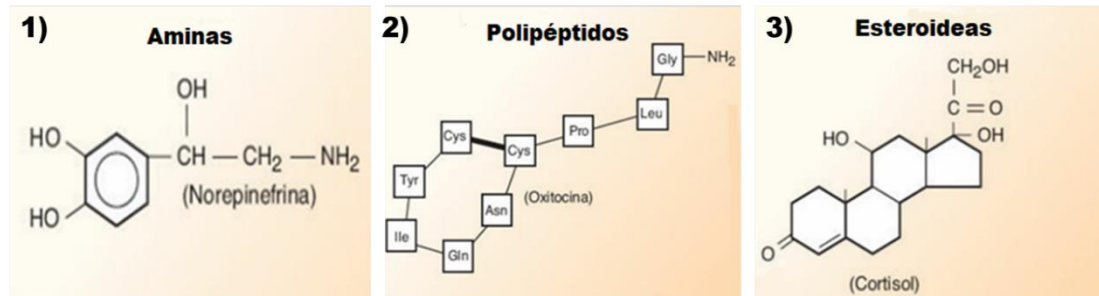
<b>Ligando</b>	<b>Subunidades de mayor afinidad</b>	<b>Efecto</b>	<b>Referencia</b>
Benzodiazepinas	$\alpha$ y $\beta$	Modulación alostérica positiva	(Sigel yErnst, 2018)
Testosterona	$\gamma 2$ y $\delta$	Modulación alostérica positiva	(Carver yReddy, 2013)
Bicuculina	$\alpha$	Antagonista	(Defeudis, 1990)
Etanol	$\alpha$ , $\beta$ y $\delta$	Agonista	(Olsen, 2018)
Barbitúricos	$\gamma$ y $\beta$	Modulación alostérica	(Sigel ySteinmann, 2012)
3 $\alpha$ ,5 $\beta$ -THPROG	$\alpha 4$ y $\gamma 2$	Modulación alostérica positiva	(Kelvin, 1990)
Picrotoxina	$\alpha 1$ y $\beta 2$	Antagonista	(Ghit y cols., 2021)
3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -THDOC	$\alpha 4$ y $\gamma 2$	Modulación alostérica positiva	(Wang, 2011)
3 $\alpha$ -androstenediol	$\alpha$ y $\beta$	Modulación alostérica positiva	(Reddy, 2004a)
Alopregnenolona	$\gamma 2$ y $\alpha$	Modulación alostérica positiva	(Miziak y cols., 2020)

## Hormonas

Las hormonas son sustancias químicas emisoras de señales que se liberan en pequeñas cantidades y llevan información desde una célula secretora hacia a una célula efectora, a través del torrente sanguíneo, con el fin de ejercer una acción biológica (Hall, 2018). Algunas hormonas tienen diferentes efectos en varios tejidos blanco, a esta característica se le conoce como multiplicidad de función (Rhoades y Bell, 2018). De hecho, las hormonas regulan diferentes funciones en el organismo, como lo es el crecimiento y el desarrollo, el mantenimiento del medio externo, la regulación del metabolismo, la diferenciación celular y la reproducción (Dorantes-Cuéllar y cols., 2012).

Las hormonas pueden clasificarse de acuerdo a su naturaleza química: 1) hormonas derivadas de aminas; 2) hormonas derivadas de péptidos y 3) hormonas derivadas del colesterol (Figura 6: Rhoades y Bell, 2018).

1. **Hormonas derivadas de aminas:** son derivadas de uno o dos aminoácidos modificados. Cada una de estas hormonas es sintetizada por una secuencia particular de enzimas localizadas en la glándula endócrina donde se producen.
2. **Hormonas derivadas de péptidos:** son derivadas de péptidos y/o proteínas.
3. **Hormonas derivadas del colesterol:** también llamadas hormonas esteroideas, son moléculas liposolubles e hidrofóbicas, sintetizadas a partir de colesterol. Cuando se producen en el SNC se les conoce como neuroesteroides.



**Figura 6. Ejemplos de diferentes estructuras químicas de hormonas.** 1) Hormona derivada de amina. 2) Hormona derivada de polipéptidos. 3) Hormona derivada de colesterol. Modificado de Rhoades y Bell, 2018.

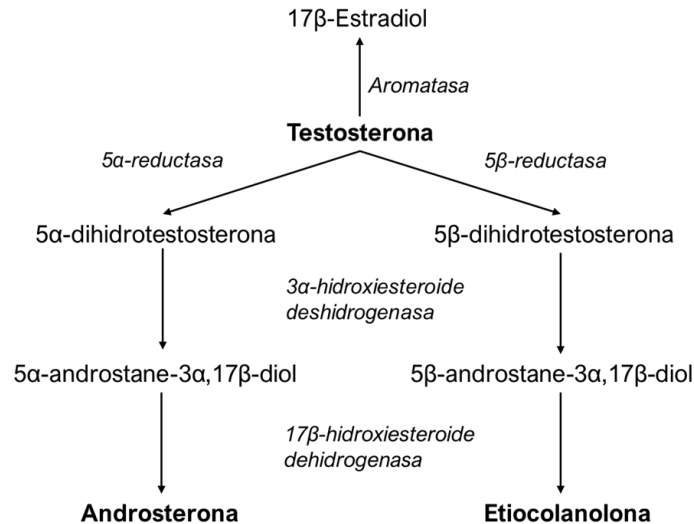
La secreción hormonal es pulsátil, es decir no tiene lugar de forma continua ni uniforme a lo largo de la vida del individuo. Pueden ocurrir pulsos de secreción que duran minutos, horas, meses e incluso años (Jameson, 2017).

## Hormonas sexuales

Las hormonas sexuales, pertenecen al grupo de las hormonas esteroideas dada su naturaleza química derivada del ciclopentanoperhidrofenantreno (Jameson, 2017). La liberación de estas hormonas está controlada por el eje hipotálamo-pituitario-gonadal, además están involucradas en el desarrollo y funcionamiento de los órganos sexuales masculinos y femeninos, son producidas en los ovarios, en los testículos y en las glándulas suprarrenales (Jameson, 2017).

La testosterona es la hormona sexual masculina, su producción es estimulada por la hormona luteinizante (LH, de sus siglas en inglés) que actúa sobre células de Leydig de los testículos y su función principal es la virilización de los genitales masculinos internos y el mantenimiento de los caracteres sexuales externos (Jameson, 2017). La testosterona es secretada a una razón de 4 a 9 mg diarios en hombres adultos sanos, aproximadamente el 98% de la testosterona plasmática se encuentra unida a proteínas, lo que facilita su transporte en el plasma (Lizcano, 2017). El metabolismo de la testosterona sigue dos vías, por un lado, la aromatización de la testosterona por acción de la enzima aromatasa que convierte a la testosterona en  $17\beta$ -estradiol, mientras que, la reducción de testosterona por parte de la enzima  $5\alpha$  o  $5\beta$ -reductasa, puede producir  $5\alpha$  o  $5\beta$ -dihidrotestosterona, que posteriormente se convierte en  $5\alpha$ -androstane- $3\alpha,17\beta$ -diol y en  $5\beta$ -androstane-

3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol. Finalmente, el último paso es catalizado por la enzima 17 $\beta$ -hidroxiesteroide-deshidrogenasa y produce androsterona y eticolanolona (Reddy, 2004; Tutka y cols., 2019; Véase Figura 7).



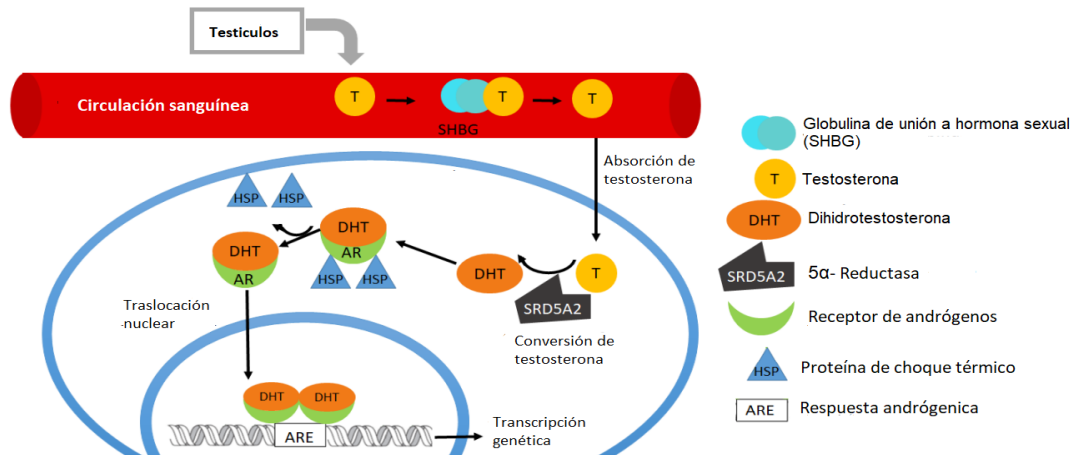
**Figura 7. Vías del metabolismo de la testosterona.** La testosterona es metabolizada por dos vías. La vía de la enzima aromatasa, que produce estradiol y por la vía de la 5 $\alpha$  o 5 $\beta$ -reductasa que produce androsterona y eticolanolona. Modificado de Tutka y cols., 2019.

Una vez secretada al torrente sanguíneo, la testosterona puede viajar libre o unida a la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG, de sus siglas en Inglés) hacia varios órganos diana e inclusive atravesar la barrera hematoencefálica debido a sus propiedades químicas lipofílicas (Durdikova y cols., 2011; Pfaff y Joels, 2017).

La testosterona se disocia de la SHBG en el órgano diana y difunde por gradiente de concentración hacia las células, donde se une a los receptores para andrógenos, y puede activar dos vías de señalización (Norman y cols., 2004; Luetjens y Weinbauer, 2012):

1. **La vía genómica clásica (lenta):** El receptor de andrógenos unido a la testosterona provoca una cascada de señalización que induce factores transcripcionales que regulan la expresión de genes implicados en la proliferación, diferenciación, metabolismo y apoptosis de las células (Hohl, 2017). Los efectos genómicos, pueden tardar horas o días para producir sus acciones (véase Figura 8; Martínez-Rojo y cols., 2021).

2. **La vía no genómica (rápida):** La unión de la testosterona al receptor de andrógenos forma un complejo ligando-receptor que está vinculado por algún mecanismo a la producción de una respuesta biológica rápida. Los efectos no genómicos, pueden tardar segundos, minutos e inclusive años para producir sus acciones.



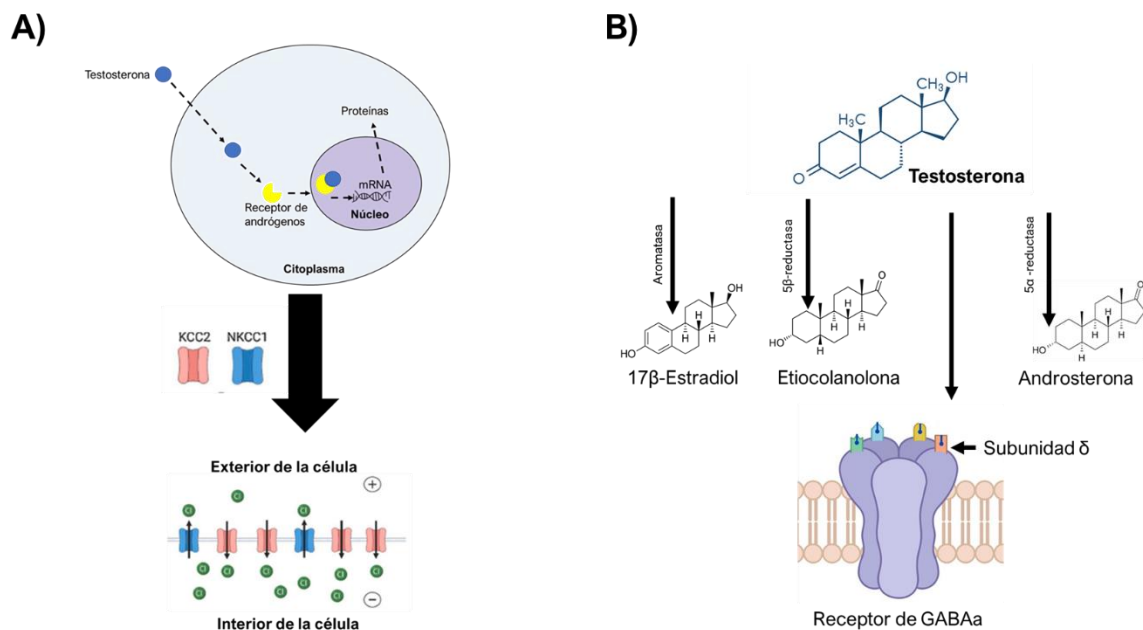
**Figura 8. Representación esquemática de la vía genómica de acción de los andrógenos.** La testosterona es secretada por los testículos a la circulación sanguínea, donde se une a SHBG. Una vez en tejido diana, la testosterona se disocia de SHBG, atraviesa la membrana celular donde puede ser metabolizada a 5 $\alpha$  o 5 $\beta$ -dihidrotestosterona por la acción de las enzimas 5 $\alpha$  o 5 $\beta$ -reductasas. Posteriormente, se une al receptor de andrógenos y a las proteínas de choque térmico, facilitando la entrada hacia el núcleo celular. Finalmente, el andrógeno se disocia del receptor de andrógenos para unirse al ácido desoxirribonucleico, formando complejos con coactivadores y corre reguladores transcripcionales para la regulación de la expresión del gen diana. SHBG: Globulina de unión a hormona sexual, T: Testosterona, DHT: Dihidrotestosterona, SRD5A2: 5 $\alpha$ -reductasa, HSP: Proteína de choque térmico y ARE: Respuesta androgénica. Modificado de Martínez-Rojo, 2021.

La activación de los efectos lentos o rápidos de la testosterona dependen de la concentración y del número de receptores de andrógenos expresados en los órganos diana (Bennett y cols., 2010). Se ha descrito que en el cerebro, existen gran cantidad de receptores para los andrógenos (Sarkey y cols., 2008), expresados diferencialmente entre machos y hembras, especialmente en el hipocampo, el hipotálamo y en la corteza cerebral (Smith y cols., 2002).

Recientemente, se ha propuesto que la unión de la testosterona a los receptores de andrógenos activa la vía genómica clásica y puede modular la excitabilidad neuronal

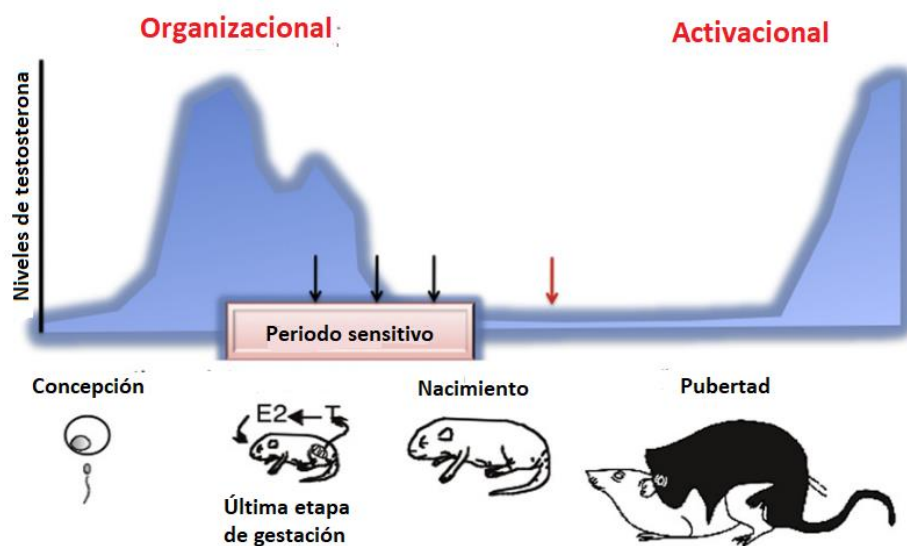
a través de la regulación génica de los cotransportadores para el cloro NKCC1 y KCC2, que se encuentran en la sinapsis GABAérgica (Kipnis y cols., 2019; Reddy y cols., 2021: Véase Figura 9A).

Al igual que varios neuroesteroides, se ha descrito que la testosterona y sus metabolitos pueden funcionar como moduladores alostéricos positivos del receptor GABA $\alpha$  (Olsen, 2018). Es por ello, que se ha propuesto su participación en el inicio y desarrollo de las crisis epilépticas, particularmente en aquellas del tipo tónico-clónicas inducidas por fármacos (Reddy, 2013). Estudios realizados en ratas macho orquiectomizados, demostraron que tanto la androsterona como la eticolanolona tienen potentes efectos anticonvulsivos (Kaminski y cols., 2005). Mientras que, 17 $\beta$ -estradiol tiene un papel facilitador en el desarrollo de las crisis tónico-clónicas (Reddy, 2004; véase Figura 9B).



**Figura 9. Efectos de la testosterona sobre la excitabilidad neuronal.** En **A) La regulación génica a través de los receptores de andrógenos.** La testosterona modula la expresión de los cotransportadores de cloro NKCC1 y KCC2 a través de los receptores de andrógenos. En **B) La modulación alostérica por parte los receptores GABA $\alpha$ .** La testosterona y sus metabolitos modulan alostéricamente a los receptores de GABA $\alpha$ .

Por otra parte, las hormonas sexuales también participan en la diferenciación sexual del cerebro, y su acción está mediada por receptores nucleares que regulan ciertos genes (Barrett y cols., 2010). En algunos mamíferos la diferenciación sexual del cerebro ocurre al final del embarazo y primeros días de vida post-natal, y da lugar a cambios en estructuras y funciones cerebrales (McCarthy, 2012; Baum y cols., 1988), por lo que resulta un excelente modelo para estudiar los cambios que suceden en el cerebro durante este periodo de diferenciación neuronal. Adicionalmente, en los roedores, la testosterona es transformada a estradiol por la enzima aromatasa dentro del cerebro, el cual es el responsable de la masculinización y desfeminización del cerebro (McCarthy y cols., 2017; véase Figura 10).

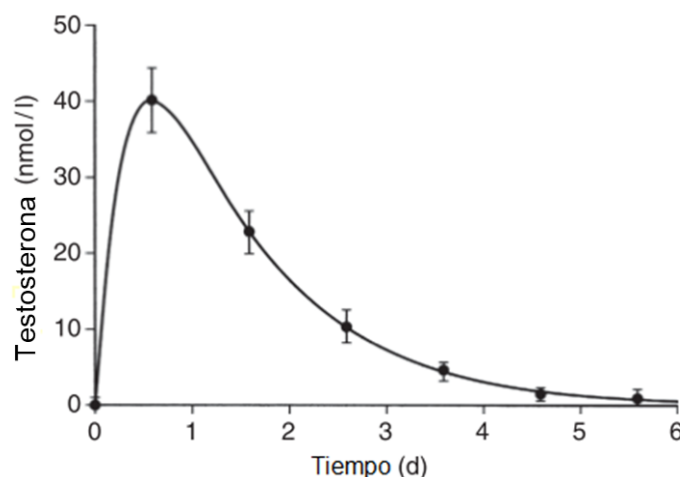


**Figura 10. La diferenciación sexual del cerebro durante el periodo sensible.** En el roedor, el periodo sensible comienza durante la última etapa de la gestación, con el inicio de la producción de testosterona testicular en los machos, y se mantiene hasta los primeros días de vida postnatal. Durante el periodo sensible, la testosterona testicular viaja por torrente sanguíneo hacia el cerebro, donde es aromatizada localmente a estradiol dentro de las neuronas. Las acciones en conjunto del estradiol y los andrógenos producen la masculinización de los circuitos neuronales, a través de sus efectos organizacionales. Posteriormente, durante la pubertad, los esteroides gonadales actúan sobre los circuitos neuronales para activar el comportamiento y la fisiología reproductiva típica masculina o femenina. Las flechas negras señalan el periodo sensible a la masculinización, mientras que, la flecha roja señala el término del periodo sensible. Modificado de McCarthy, 2012.

El uso de la testosterona en la investigación científica comenzó a tomar relevancia a partir de su aislamiento (David y cols., 1935) debido al interés por su uso en el tratamiento de hombres con hipogonadismo-hipogonadotrópico (Nieschlag y Behre, 2012). Sin embargo, debido al hecho de que la testosterona no tiene acciones cuando es administrada por vía oral y que posee efectos secundarios graves, comenzaron a surgir modificaciones químicas que aumentaban sus efectos eritropoyéticos y anabólicos y con menos efectos secundarios a largo plazo (Morgentaler y Traish, 2020).

La terapia de sustitución de la testosterona más utilizada en la investigación científica es la inyección intramuscular e intraperitoneal de ésteres de testosterona (Nieschlag y cols., 2010). Adicionalmente, los ésteres de testosterona son administrados en un vehículo oleoso dado que generalmente es seguro, bien tolerado y contribuye a disminuir la absorción rápida de la testosterona (Mackey y cols., 1995).

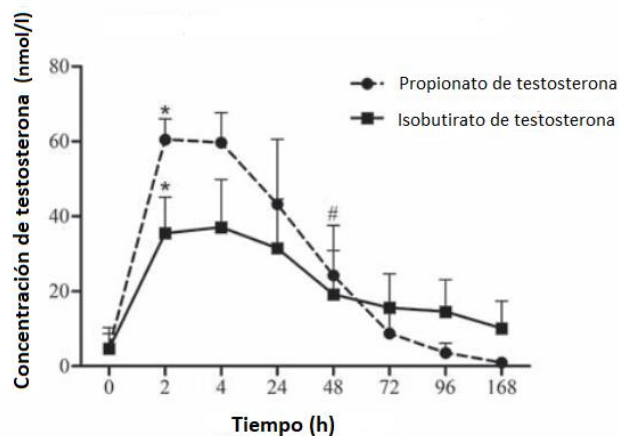
El propionato de testosterona es un éster de testosterona aromatizable, posee una vida media de dos días y es metabolizado por el hígado. Gracias a sus rápidos efectos y a su farmacocinética, es el derivado de testosterona más recomendado en estudios científicos de corta duración (Figura 11; Behre y Nieschlag, 2012).



**Figura 11. Concentración sérica de testosterona después de la administración de propionato de testosterona.** Concentración sérica de testosterona después de la administración de una sola dosis de 50 mg de propionato de testosterona en siete pacientes con hipogonadismo (Modificado de Nieschlag, 2012).

Así mismo, también se ha utilizado el propionato de testosterona como terapia de remplazo hormonal en roedores, donde la administración de 5 mg/Kg en ratas macho orquiectomizadas, aumentó los niveles de testosterona sérica a niveles supra fisiológicos, llegando por encima de los 50 nmol/L (Filová y cols., 2012; véase Figura 12).

Por otro lado, la administración subcutánea de 0.2mg/350g/rata de propionato de testosterona logró disminuir significativamente el número de crisis tónico-clónicas inducidas por pentilenetetrazol (PTZ) en ratas macho orquiectomizadas (Schwartz-Giblin y cols., 1989).



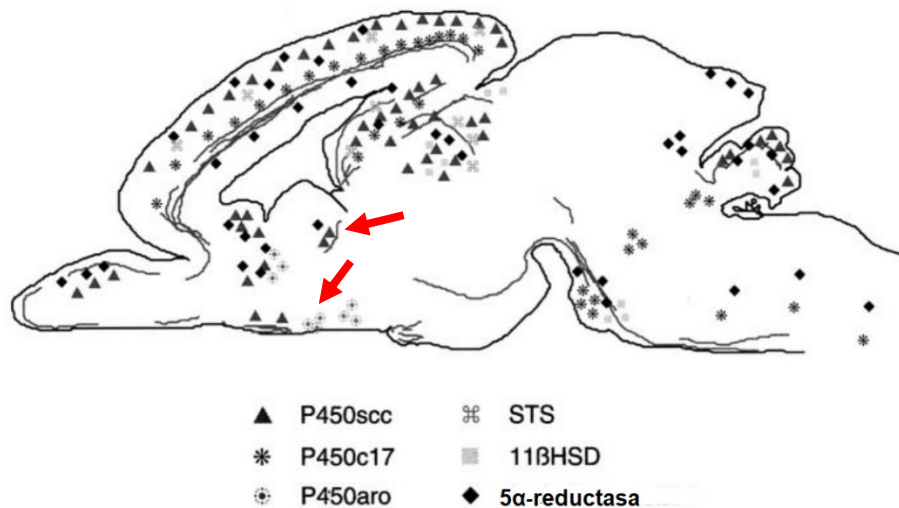
**Figura 12. Concentración sérica de testosterona ratas macho orquiectomizados.** Concentración sérica de testosterona después de la administración de una sola dosis de 5 mg/Kg de propionato de testosterona (●) e isobutirato de testosterona (■). El número de sujetos fue de 5 con cada tratamiento. Modificado de Filová, 2012.

## Neuroesteroides

Se les conoce como neuroesteroides, a aquellos esteroides que pueden ser sintetizados dentro del cerebro y que modulan la excitabilidad neuronal a nivel de los canales iónicos, de los receptores de membrana y a partir de los cuales se generan acciones genómicas (Mellon y Griffin, 2002). Existe evidencia de la presencia de enzimas implicadas en la esteroideogénesis en varias regiones del encéfalo tanto de humano como de rata (véase Figura 13). Adicionalmente, la corteza cerebral, el bulbo olfatorio, el cerebelo y el hipotálamo, son las zonas de

mayor actividad enzimática esteroideogénica en los roedores (Compagnone y Mellon, 2000).

Se pueden clasificar en tres clases: neuroesteroides sulfatados, los cuales ejercen efectos excitatorios; y neuroesteroides pregnanos y androstanos que ejercen efectos inhibitorios a través de la modulación del receptor GABA<sub>A</sub>, principalmente en aquellos que poseen la subunidad  $\delta$  (Lévesque y cols., 2020). La actividad neuromoduladora del receptor de GABA<sub>A</sub> de los androstanos es rápida (minutos-horas) debido a su naturaleza química (Reddy, 2003). Adicionalmente, se ha descrito que la modulación del receptor GABA<sub>A</sub> es dependiente de la concentración del neuroesteroide; a bajas concentraciones funciona como un potenciador de la sinapsis inhibitoria, mientras que, en altas concentraciones disminuye la acción inhibitoria del neurotransmisor GABA (Carver y Reddy, 2013). Dada la relevancia de la neurotransmisión inhibitoria mediada por GABA en la epilepsia, los neuroesteroides pregnanos y androstanos pueden actuar como anticonvulsivos de amplio espectro (Reddy, 2011; Biagini y cols., 2013).



**Figura 13. Representación esquemática de un cerebro de rata que muestra la expresión regional de las enzimas implicadas en la neurosteroidogénesis.** Los símbolos de las diferentes enzimas esteroideogénicas se muestran en la parte inferior de la figura. Las flechas rojas señalan la presencia de enzimas implicadas en la síntesis y en el metabolismo de andrógenos en diversas regiones hipotálamicas. Modificado de Mellon, 2000.

Finalmente, cabe destacar que, varios estudios sugieren que la sensibilidad a los neuroesteroides puede verse modificada por el género del individuo, dado que las concentraciones plasmáticas de las hormonas sexuales, la actividad metabólica y las diferencias biológicas en los receptores neuronales pueden modificar la biodisponibilidad y funcionamiento de los neuroesteroides (Reddy, 2014; Tabatadze y cols., 2015). De hecho, se han observado diferencias en la modulación alostérica del receptor GABA<sub>A</sub> entre ratas macho y en las ratas hembra inducida por tetrahydrodeoxicorticosterona (THDOC), pero no con 3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -tetrahidroprogesterona, también denominada alopregnenolona (Gulinello y Smith, 2003).

### Los modelos animales para el estudio de las crisis de ausencia

El uso de modelos animales para el estudio de las crisis de ausencia está enfocado en la búsqueda de mejores opciones de tratamiento, de fármacos más eficaces y en el tratar de entender los procesos biológicos que desencadenan la patología. En la actualidad existen dos tipos de modelos de estudio en las crisis de ausencia, aquellos en los que es necesario la administración de fármacos o estimulación eléctrica para inducir las crisis de ausencia y los que expresan las crisis de ausencia de manera espontánea debido a su origen genético (véase Tabla 2). Los modelos de crisis de ausencia inducidos por fármacos durante mucho tiempo representaron la mayor parte de la investigación. Actualmente los modelos animales de crisis de ausencia de origen genético nos ofrecen una mejor aproximación a los mecanismos de expresión y mantenimiento de las crisis de ausencia en humanos, principalmente debido a que se presentan de manera espontánea (Lopes-Aguiar y cols., 2014).

Tabla 2. Modelos animales de crisis de ausencia: inducidos por fármacos y/o de origen genético

Tipo	Modelo animal	Especie	Referencia
<b>Inducido por fármacos</b>			
Administración de AY-9944(1,4- 13 bis-[2-clorobenzilaminometil]-ciclohexano dihidrocloruro)	Modelo AY-9944	Rata	(Smith y Bierkamper, 1990)
Administración de (4,5,6,7-tetrahidroisoxazolo-[5,4-c]piridina-3-ol) o THIP	Modelo THIP	Rata	(Vergnes y cols., 1984)
<b>Genéticos</b>			
Mutación en el gen Cacng2	Ratón <i>Stargazer</i>	Ratón	(Letts y cols., 1998)
Mutación en el gen Cacna1a	Ratón <i>Tottering</i>	Ratón	(Fletcher y cols., 1996)
Mutación en el gen Cacnb4	Ratón <i>letárgico</i>	Ratón	(Burgess y cols., 1997).
Mutación poligenética (Wistar albina Glaxo/Rijswijk)	GAERS	Rata	(Marescaux y Vergnes, 1995)
Mutación poligenética	WAG/Rij	Rata	(Coenen y Van Luijtelaar, 2003)
Mutación gen Tubb4a	<i>taiep</i>	Rata	(Holmgren y cols., 1989)
Mutación en el gen C57BL	Ratón <i>Leaner</i>	Ratón	(Noebels, 1984)

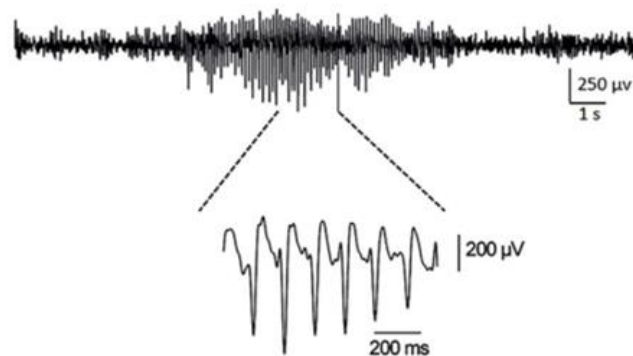
**GAERS:** Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg; **taiep acrónimo de:** temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis; **WAG/Rij:** Wistar albina Glaxo/Rijswijk

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

La rata GAERS fue inicialmente descrita en Estrasburgo, Francia en el año 1982 por el grupo de la Dra. Marguerite Vergnes. Estudios electroencefalográficos posteriores mostraron que las ratas GAERS presentan descargas espiga-onda con un rango de frecuencia de entre 7 a 11 Hz. con una duración media de 18–25 segundos y una frecuencia promedio de 1.5 por minuto (véase Figura 14), las cuales presentan un inicio y final abrupto en el EEG. Conductualmente el animal permanece inmóvil y tiene pequeñas contracciones faciales (Vergnes y cols., 1982; Marescaux y Vergnes, 1995).

Se ha reportado que existe un dimorfismo sexual en la expresión de las descargas espiga-onda en las ratas GAERS. En los machos, las descargas espiga-onda tienen una duración menor comparado con las que presentan las hembras (van Luijtelaaar y cols., 2014).

En cuanto a la participación de hormonas sexuales en la expresión de las crisis de ausencia de la rata GAERS, aún no se han realizado estudios (van Luijtelaaar y cols., 2014).



**Figura 14. Crisis de ausencia en la rata GAERS.** Patrón de descarga espiga-onda característico de la rata GAERS, en la parte inferior se muestra una ampliación del trazo, mostrándose la morfología espiga-onda característica de este tipo de epilepsia. Modificado de Dezsi y cols, 2013.

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

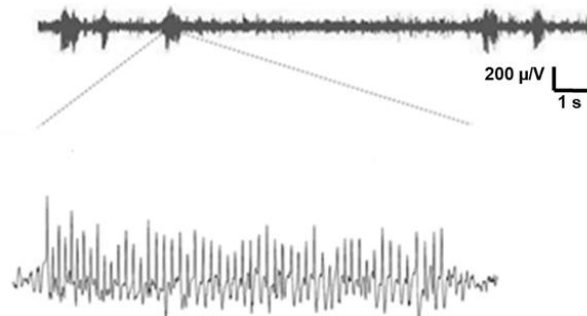
Es un modelo de crisis de ausencia genético descrito en los Países Bajos en la provincia de Rijswijk por Coenen y van Luijtelaaar en 1996. Presenta descargas

espiga-onda con una frecuencia de 7 a 10 Hz a lo largo del ciclo sueño-vigilia, de manera abrupta, con una duración de entre 5 y 15 segundos (véase Figura 15). Las descargas son bilaterales, simétricas y presentes en toda la corteza cerebral (van Luijtelaar y Coenen, 1986; Meeren y *cols.*, 2005).

Las ratas WAG/Rij no tienen un dimorfismo sexual en cuanto a la expresión de las descargas espiga-onda (Coenen y Van Luijtelaar, 1987), por lo que se han realizado pocos estudios sobre la influencia de las hormonas sexuales.

En cuanto a la participación de algunos neuroesteroides en las crisis de ausencia de las ratas WAG/Rij, la administración de alopregnenolona también denominada 3 $\alpha$ -hidroxi-5 $\alpha$ -pregnano-20-Uno o 3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -tetrahidroprogesterona, un derivado natural de la progesterona, disminuyó la frecuencia y duración de las crisis de ausencia (Karabulut y *cols.*, 2018). Esta actividad antiepiléptica se debe a la modulación alostérica positiva del receptor GABA<sub>A</sub> (Budziszewska y *cols.*, 1999; Citraro y *cols.*, 2006; Pisu y *cols.*, 2008). Adicionalmente, el neuroesteroide sintético ganaxolona un homólogo de vida media mayor, aumentó la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia dependiendo de la vía de administración y durante los primeros 30 minutos de registro electroencefalográfico (Citraro y *cols.*, 2006).

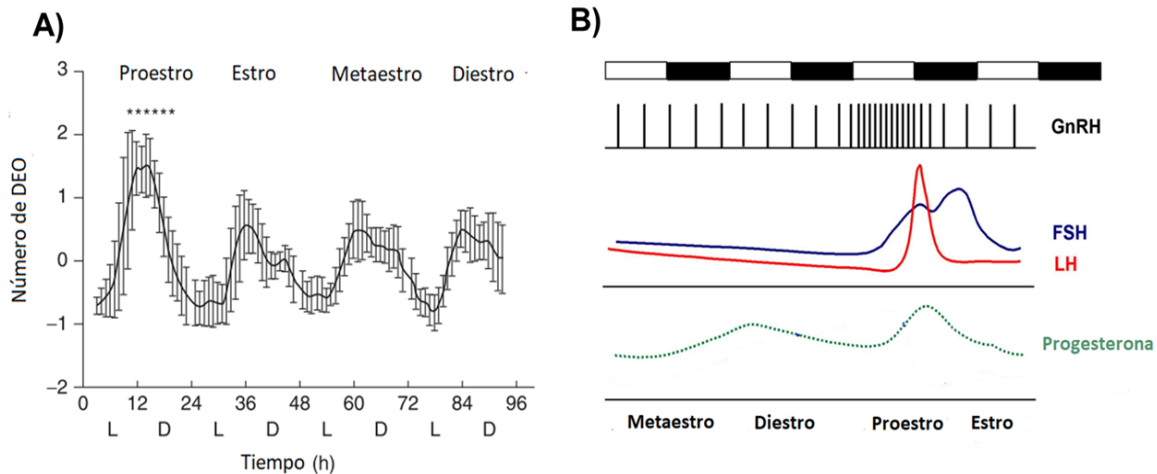
Por otra parte, la ovariectomía de ratas hembras WAG/Rij incrementó la frecuencia y la duración de las descargas espiga-onda (Yildiz y *cols.*, 2011).



**Figura 15. Crisis de ausencia de una ratona hembra WAG/Rij.** Note el patrón espiga-onda característico de las crisis de ausencia en esta ratona, en la parte inferior se muestra una ampliación del trazo. Modificado de Kovács y *cols.*, 2017.

En relación con el ciclo estral de la ratona WAG/Rij hembra, se ha demostrado que las fluctuaciones en los niveles de progesterona durante el ciclo estral modulan la

frecuencia de aparición de las DEO. Durante las primeras horas de la noche del proestro, se observa un aumento en la frecuencia de aparición de las DEO (Van Luitelaar y cols., 2009; véase Figura 16A). El aumento en la frecuencia de aparición de las DEO concuerda con el aumento en la liberación de progesterona durante el proestro del ciclo estral de la rata (Miller yTakahashi, 2014; véase Figura 16).



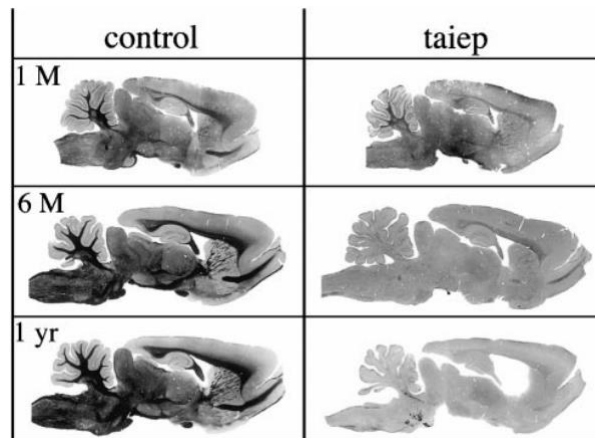
**Figura 16. Variación en el número de descargas espiga-onda en el ciclo estral de la rata WAG/Rij.** En **A)** Se pueden observar variaciones en el número de DEO a lo largo del ciclo estral de la rata WAG/Rij. Durante la fase del proestro, se observa un aumento en las DEO. En **B)** se observa el ciclo estral de la rata. Durante la fase del proestro se observa un aumento en la liberación de la hormona luteinizante (LH), de la hormona foliculo estimulante (FSH) y de progesterona. Modificado de Van Luitelaar y cols., 2009 & Miller y cols., 2014.

Para finalizar, se ha demostrado que el número de DEO disminuye durante las dos primeras semanas del embarazo de las ratas WAG/Rij, pero aumentan exponencialmente durante las tercera y última semana del embarazo (Tolmacheva y cols., 2004; Kovács y cols., 2017).

### La rata *taiep*

La rata *taiep* es una mutante de tubulina 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 cruas 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 a lo largo de su desarrollo, temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis. La fisiopatología es causada por una mutación en el gen *Tubb4a* en el cromosoma 9 (Garduno-Robles y cols., 2020), la cual produce un fenotipo de hipomielinización inicial seguida de una desmielinización progresiva del sistema nervioso central (véase Figura 17).



**Figura 17. Hipomielinización y desmielinización del sistema nervioso central de la rata *taiep*.** Microfotografías de cortes parasagiales del cerebro de la rata *taiep* y ratas control de la cepa Sprague-Dawley emparejadas por edad, se observa la mielina teñida con tetrazolio y diaminobencidina (coloración oscura). Note los niveles reducidos de mielina en el SNC de la rata *taiep* al primer mes de edad y la pérdida progresiva de la mielina con el transcurso del tiempo en comparación con la rata control. (Modificado de O'Connor y cols., 2000).

La enfermedad causa 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 todas las proteínas específicas de la mielina (Couve y cols., 1997) por lo que se produce una disminución de todas las proteínas específicas de la mielina como son la proteína básica de la mielina (PBM), la proteína proteolipídica (PPL) y la glicoproteína asociada a la mielina (GAM) (Möller y cols., 1997). Adicionalmente, la deficiencia de proteínas y la acumulación de microtúbulos, provocan la organización anormal de la mielina en los axones produciendo desmielinización progresiva (Krsulovic y cols., 1999). Es importante mencionar que la rata *taiep* tiene una sobrevivencia de alrededor de 24 meses, al igual que la rata Sprague-Dawley sin patología, lo que ofrece una

ventaja con respecto a otros animales carentes del gen de la tubulina  $\beta$ 4A. (Cortés y cols., 2005).

La epilepsia en la rata *taiep* fue inicialmente descrita como del tipo de crisis audiogénicas, producidas por estímulos auditivos de 103 dB y con un amplio rango de frecuencias emitidas por una chicharra que se encendía a intervalos de 30 segundos (Holmgren y cols., 1989). Estudios electroencefalográficos posteriores, realizados en el laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor, mostraron que la epilepsia en la rata *taiep* es del tipo crisis de ausencia, debido a que se presentan descargas corticales del tipo espiga-onda (Eguibar y Cortés, 2010).

A nivel reproductivo, la fertilidad en las ratas *taiep*, se encuentra disminuida cuando se compara con la de una rata Sprague-Dawley (Holmgren y cols., 1989). En las ratas hembra se ha observado un aumento en las concentraciones de testosterona, retraso en la apertura vaginal y reducción en el número de folículos, además de disminución en las catecolaminas ováricas y un aumento en la expresión de kisspeptina en los machos *taiep*, pero no en las hembras (Muñoz de la Torre y cols., 2018, 2022).

#### Un modelo de la tubulinopatía H-ABC

Las tubulinopatías son un grupo recientemente descubierto de trastornos del neurodesarrollo y neurodegenerativos (Gonçalves y cols., 2018), que se caracterizan por la mutación en los genes que codifican para la  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina (Fertuzinhos y cols., 2022). Las tubulinas  $\alpha$  y  $\beta$ , conforman una parte fundamental de los microtúbulos, estructuras claves en el citoesqueleto de todas las células eucariotas y que participan en diferentes funciones, como son el desarrollo neuronal, la división celular, la motilidad celular y el transporte axonal (Gonçalves y cols., 2018).

Las mutaciones en los genes TUBA1A, TUBB2B y TUBB3 son responsables de alrededor del 90% de los casos asociados a malformaciones cerebrales como son microgiria, lisencefalía y la agiria (Romaniello y cols., 2015; Gonçalves y cols.,

2018). Mientras que, mutaciones en el gen TUBB4A provocan alteraciones cerebrales caracterizadas por hipomielinización y atrofia cerebelosa (Romaniello y cols., 2018).

La hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC, de sus siglas en inglés hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum), es un síndrome raro descrito por primera vez en año 2002 por Van der Knaap y cols., (2002) y que se caracteriza por una mutación *de novo* en el gen TUBB4A, que codifica para la  $\beta$ -tubulina 4A (Simons y cols., 2013). Sus manifestaciones clínicas comienzan regularmente durante la infancia, y se caracterizan por trastornos progresivos del movimiento, como distonía, coreoatetosis y rigidez, causados por la atrofia de los ganglios basales. Además de, ataxia, tetraplejia espástica y en algunas ocasiones, epilepsia (Van der Knaap y cols., 2002; Simons y cols., 2013; Tonduti y cols., 2016; Romaniello y cols., 2019).

Las imágenes por resonancia magnética (MRI, de sus siglas en inglés magnetic resonance imaging), es la principal herramienta para el diagnóstico del síndrome H-ABC (Parikh y cols., 2015) el cual es confirmado por estudios genéticos del exoma o secuenciación total (Parikh y cols., 2015).

En una colaboración entre nuestro laboratorio y un grupo de investigadores de la Universidad de Guanajuato y del Centro de Investigación en Óptica A. C., describieron a la rata *taiep* como el único modelo animal para el estudio de la H-ABC, debido a que presenta una mutación en el gen *Tubb4* (Garduno-Robles y cols., 2020)

La mutación es el tipo puntual y presenta un cambio de 'G por A' en el exón 4B que implica un cambio de una alanina por una treonina en la posición 302 (Garduno-Robles y cols., 2020). Las imágenes por resonancia magnética de la rata *taiep*, muestran que presenta cambios morfológicos consistentes de hipomielinización y atrofia en el cerebelo e hipodensidad en el caudado-putamen. Por tanto, las características radiológicas de la rata *taiep*, coinciden estrechamente con las de los humanos que padecen H-ABC (Garduno-Robles y cols., 2020). En la actualidad, el uso de nuevas técnicas de microscopía de generación de segundo armónico (SHIM,

de sus siglas en inglés second-harmonic imaging microscopy), ha permitido a nuestro grupo de investigación permitir la descripción de los aspectos estructurales y moleculares del H-ABC en el tejido cerebral (Alata y cols., 2022).

## Antecedentes

Las descargas espiga-onda de la rata *taiep* se presentan de manera espontánea, además; poseen una frecuencia principal de entre 4 a 8 Hz (Eguibar y Cortés, 2010). Adicionalmente, las crisis de ausencia en la rata *taiep* son de carácter sexualmente dimórfico, ya que en los machos las crisis de ausencia se presentan a partir del tercer mes de edad, mientras que, en las hembras se presentan a partir de los 6 meses de edad (Cortés y cols., sometido a comisión editorial para ser publicado).

El dimorfismo sexual en la expresión de las crisis de ausencia de la rata *taiep* aún no se ha dilucidado, es por ello por lo que, con el objetivo de caracterizar las posibles hormonas sexuales implicadas en la generación y mantenimiento de las crisis de ausencia, se han estudiado los efectos de algunas hormonas esteroides sexuales.

En ratas *taiep* macho adultas orquietomizadas, la progesterona no mostró ningún efecto significativo en la frecuencia y duración de las crisis de ausencia, mientras que la administración de  $17\beta$ - estradiol disminuyó la duración de las crisis de ausencia significativamente en las ratas *taiep* macho adultas con orquiectomía (Grados, 2019; Cortés y cols., 2022).

En lo que respecta a las ratas *taiep* hembras, la administración sistémica subcutánea de 20 mg/Kg de progesterona aumentó la frecuencia y la latencia al primer episodio de descarga espiga-onda en ratas *taiep* hembras que fueron ovariectomizadas e histerectomizadas, pero no en aquellas que solo fueron ovariectomizadas, demostrando que la biodisponibilidad de esta, es relevante en el mantenimiento de las DEO en las ratas *taiep* hembras (Andrade, 2022).

Adicionalmente, la administración central de 2  $\mu$ g de prolactina en ratas *taiep* hembras incrementó la frecuencia y la duración de las DEO, y disminuyó la latencia al primer episodio de DEO, mostrando la capacidad de la prolactina para modular al circuito tálamo-cortical y con ello modificar la incidencia de las DEO (Alvarado, 2021).

En relación a lo antes mencionado, resultados experimentales muestran que la progesterona, particularmente mediante los derivados de  $5\alpha$  y  $3\alpha$  modulan el

sistema GABAérgico, a través de la vía de los receptores GABA<sub>A</sub> (Kaminski y cols., 2005). Además, se ha reportado un incremento anormal en la liberación de la LH por parte del eje hipotálamo-pituitario-gonadal poco tiempo después de una crisis epiléptica (Dana-Haeri y cols., 1984).

La participación de las hormonas sexuales en las crisis de ausencia aún no es del todo clara, debido principalmente a la poca cantidad de estudios donde se analiza el posible rol de la diferenciación sexual que tienen algunos modelos genéticos en la expresión de las crisis de ausencia (van Luijtelaar y cols., 2014). Sin embargo, las investigaciones actuales han enfatizado la participación de las hormonas sexuales como posibles moduladores alostéricos de la sinapsis glutamatérgicas y/o GABAérgicas, que pueden afectar los umbrales de disparo neuronal y la aparición de las crisis (Pack y cols., 2011). De tal forma, que las posibles variaciones en las hormonas esteroides circulantes o en los niveles de neuroesteroides en el cerebro de hombres y mujeres podrían contribuir al dimorfismo sexual en el control de las crisis de ausencia (Reddy, 2017).

El papel de la testosterona en el inicio y mantenimiento de las crisis de ausencia se continúa estudiando. Estudios realizados en ratas orquiectomizadas han demostrado que la disminución en la testosterona se asocia con un aumento en la incidencia de las crisis tónico-clónicas inducidas por picrotoxina (Thomas y McLean, 1991), lo mismo sucedió en un modelo animal con epilepsia del lóbulo temporal inducida por ácido kaínico (Mejías-Aponte y cols., 2002), pero aún no existen estudios en animales orquiectomizados con crisis de ausencia. No obstante, estudios en humanos, han mostrado una reducción en los niveles de testosterona sérica posterior a una crisis de ausencia (Rabie y cols., 2016). Adicionalmente, se ha propuesto que la testosterona tiene una función proconvulsiva, es decir aumentando la actividad eléctrica del cerebro. Particularmente el neuroesteroide 3 $\alpha$ -androstanoediol tiene efectos proconvulsivos al considerarse un modulador alostérico para el receptor GABA<sub>A</sub> (Reddy y Jian, 2010).

Finalmente, en los modelos animales genéticos de crisis de ausencia, aún no hay estudios donde se analice la participación de la testosterona en el inicio y mantenimiento de las crisis de ausencia.

## Justificación

Debido al problema en la salud pública que ocasionan las crisis de ausencia (Organización Mundial de la Salud, 2019), a la gran cantidad de crisis farmacorresistentes y sumado al hecho de que en el mundo, existen pocos estudios en los que se analiza la relación que existe entre la testosterona y las crisis de ausencia en modelos animales (van Luijtelaaar y *co/s.*, 2014), se requieren estudios adicionales en distintas etapas del desarrollo, para dilucidar el rol de los esteroides sexuales en la epilepsia.

La rata *taiep* es un modelo animal para el estudio de la epilepsia del tipo crisis de ausencia que presenta un dimorfismo sexual en su expresión de crisis, por lo que resulta ser un excelente modelo para conocer el rol en el que participa la testosterona en las crisis de ausencia y con ello contribuir al conocimiento sobre la fisiopatología de este trastorno.

## Hipótesis

La testosterona modifica la latencia, la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia en la rata *taiep* macho adulto y en ratas las hembras adultas.

## Objetivos

### General

Evaluar el efecto de la testosterona sobre las crisis de ausencia de la rata *taiep* macho adulto y en ratas hembra adultas.

### Particulares

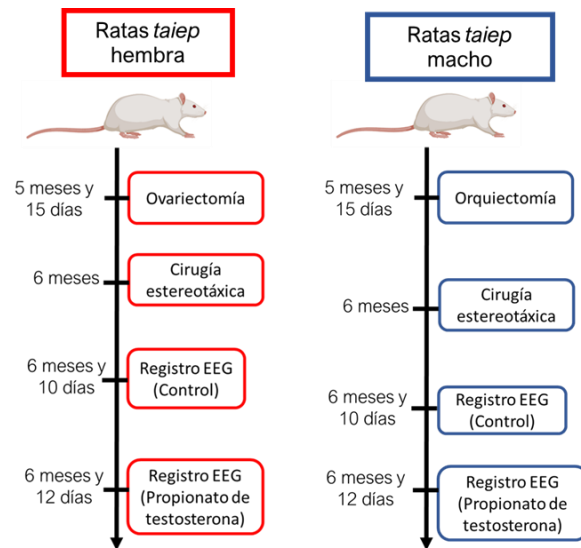
1.- Analizar el efecto de la administración sistémica y aguda de propionato de testosterona sobre latencia al primer evento de crisis de ausencia, la frecuencia y la duración de las crisis de ausencia en la hembra *taiep* adulta.

2. Analizar el efecto de la administración propionato de testosterona sobre la latencia a la primera crisis de ausencia, así como la frecuencia y la duración en ratas *taiep* macho adultas.
- 3.- Analizar el efecto de la administración propionato de testosterona sobre el número total de crisis de ausencia en las ratas *taiep* macho y hembra.
4. Analizar el efecto de la administración propionato de testosterona sobre el periodo intercrisis en las ratas *taiep* macho y hembra.

## Material y métodos

### Sujetos experimentales

Se emplearon 8 ratas *taiep* macho adultas de seis meses de edad y 8 ratas *taiep* hembras adultas de seis meses de edad, las cuales se dividieron en 2 grupos de acuerdo con el diseño experimental mostrado en la Figura 18, durante los experimentos se mantuvieron en cajas individuales de acrílico transparente con una cama de viruta de madera comprimida, con un ciclo luz-oscuridad 12:12 con encendido de luces a las 0700, libre acceso de alimento balanceado para roedores (LabDiet 5008, Purina®, Estados Unidos de América) y agua purificada (Ciel®, Coca Cola™, México), con temperatura controlada  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  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 de los Institutos Nacionales 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). El protocolo fue sometido para su aprobación al CICUAL-BUAP. Además, los animales estuvieron bajo la vigilancia y cuidado del M.V.Z. Omar Isidro Maldonado, y la M. en C. Araceli Ugarte Rojano.



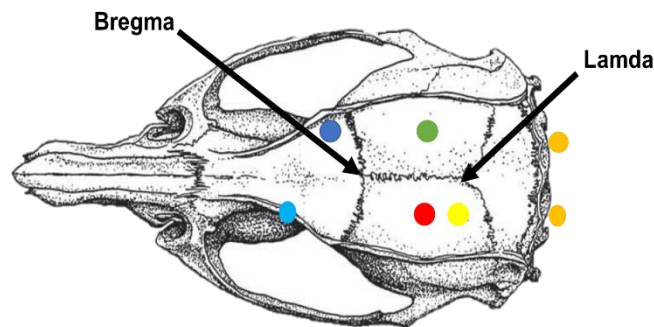
**Figura 18. Diseño experimental.** Se emplearon ratas *taiep* macho de 6 meses de edad y ratas *taiep* hembra de 6 meses de edad. Se formaron 2 grupos experimentales (n=8). A las ratas macho se les realizó una orquiectomía y a las ratas hembra una ovariectomía, posteriormente, mediante cirugía estereotáxica se implantaron electrodos en el hipocampo, la corteza cerebral, los músculos de la nuca y en la órbita del ojo izquierdo. El registro control se realizó con la administración de aceite de oliva y el registró con testosterona se realizó dos días después y mediante la administración vía subcutánea de propionato de testosterona a una concentración de 2 mg/Kg.

## Cirugía estereotáxica

El implante de electrodos para el registro electroencefalográfico (EEG) se realizó por medio de cirugía estereotáxica con la ayuda de un aparato estereotáxico tipo Kopf (Modelo 900LS, Stoelting, Estados Unidos de América) en condiciones de asepsia y antisepsia, utilizando yodopovidona al 10% (Isodine®, México) para la limpieza de la región dorsal de la cabeza. Las ratas fueron anestesiadas previamente mediante la administración intraperitoneal de 75 mg/kg de ketamina (Anesket, Pisa, México) y 5 mg/Kg de xilacina (Procin® Cheminova™, México). 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 se realizaron 4 trépanos en las regiones: frontal, parietal y occipital, para anclar tres electrodos de tornillo de acero inoxidable. Adicionalmente, se colocó un electrodo bipolar de profundidad, en el hipocampo derecho en la región CA1, siguiendo las coordenadas estereotáxicas del atlas de Paxinos y Watson (2007), que fueron

anteroposterior: -4 mm, mediolateral: -2.5 mm, dorsoventral: -2.5 mm empleando la sutura de bregma como punto de referencia estereotáxica (véase Figura 19). Adicionalmente se colocaron dos electrodos de nicromio en los músculos de la nuca para el registro del electromiograma y otro electrodo de nicromio implantado en la parte posterolateral de la órbita ocular derecha para el registro de la actividad electrooculográfica. Todos los electrodos se unieron mediante un conector de 6 polos y se fijaron al cráneo mediante acrílico dental (Nic Tone®).

Después de la cirugía, los animales se mantuvieron en recuperación durante cinco días con condiciones de antibioticoterapia mediante la administración s.c. de 16 mg/Kg de clorhidrato de lincomicina y 32 mg/Kg de espectinomicina sulfato (Five-Lincopectin®, Fivevet™, Estados Unidos de América), y analgesia con la administración s.c. de 2 mg/Kg de flunixin meglumina (Napzin®, Pisa, México).



**Figura 19. Localización de los electrodos de registro.** Se esquematiza la posición espacial de los electrodos implantados mediante cirugía estereotáxica. En color azul marino, rojo y amarillo electrodos de corteza, en verde el electrodo de hipocampo, en azul cielo electrodo para el registro del electrooculograma (EOG) y finalmente los electrodos en los músculos de la nuca para el electromiograma (EMG) en color naranja.

## Orquiectomía

A las ratas *taiep* macho de 165 días de desarrollo postnatal se les realizó una orquiectomía, para ello se utilizó ketamina (75 mg/Kg) y xilacina (5 mg/Kg) para inducir anestesia. Se rasuró el área perigenital y se colocó a la rata en una tabla quirúrgica. Se desinfectó el área escrotal empleando yodopovidona al 10% (Isodine®, México). Posteriormente se realizó una incisión en el saco escrotal, la cual se encuentra entre la región inguinal y el ano, para exteriorizar el testículo. Una

vez expuesto este se ligaron los cordones neuro-vasculares y el conducto deferente utilizando una sutura absorbible “000”, para extraer el testículo. Se realizó el mismo procedimiento quirúrgico para el otro testículo. Una vez que se extrajeron ambos testículos se suturó con hilo de seda “0000” en cada escroto y se limpió el área con una torunda con Isodine. Posteriormente se les administró meglumina de flunixin (Napzin®) 0.2mg/Kg como analgésico y enrofloxacina (Enroxil®) 0.015 mg/Kg al 5% como antibiótico durante cinco días, por vía s.c.

## Ovariectomía

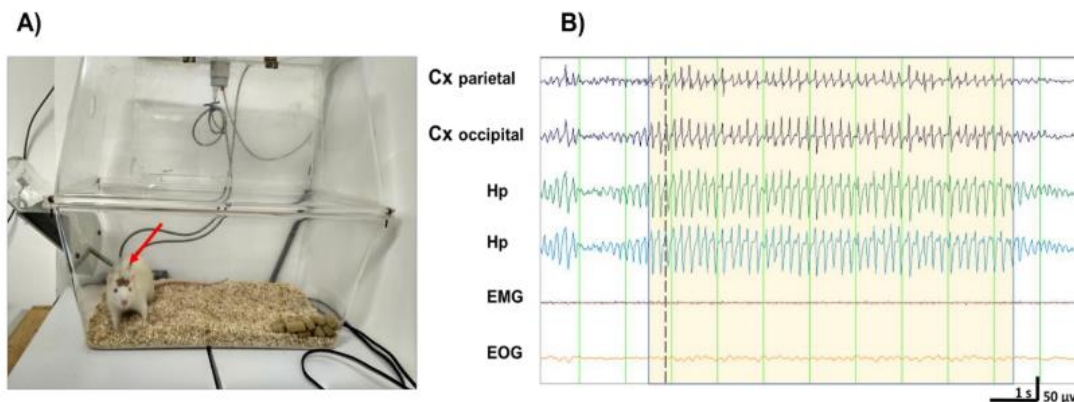
A ratas *taiep* hembra de 165 días de desarrollo postnatal se les realizó una ovariectomía, para ello se utilizó ketamina (75mg/Kg) y xilacina (5 mg/Kg) para inducir anestesia. Se rasuró el área media dorsal entre la última costilla paracentral y la pelvis. Se realizó antisepsia de la región lumbar con yodopovidona al 10%. En posición decúbito ventral se realizó un abordaje unilateral empleando tijeras Mayo rectas para cortar por planos el tejido celular subcutáneo y el músculo. Se localizaron los ovarios debajo de la incisión del músculo, embebidos en una masa de tejido adiposo, se retiró el tejido adiposo de la cavidad y se ligaron con seda “000” a la altura del oviducto, se cortaron y se extrajeron los ovarios y la porción distal de los oviductos. Posteriormente, a las ratas se le administró meglumina de flunixin (Napzin®) 0.2mg/Kg como analgésico y enrofloxacina (Enroxil®) 0.015mg/Kg al 5% como antibiótico durante cinco días por vía subcutánea (s.c.)

## Habitación pre-registro

Las ratas se habituaron por tres horas durante tres días en condiciones de registro electroencefalográfico conectadas a un sistema rotatorio tipo “swivel” lo que permite el libre movimiento de la rata. Las ratas se mantuvieron con acceso de agua y alimento *ad libitum* en una caja de acrílico transparente en un cuarto sonoamortiguado y aislado eléctricamente en una jaula tipo Faraday, con un ciclo de luz-oscuridad 12:12.

## Registro electroencefalográfico

Los registros electroencefalográficos se realizaron con el fin de analizar las descargas espiga-onda y tuvieron una duración de 24 horas comenzando a las 08:00. Se colocó a la rata en condiciones de registro media hora antes del experimento. El registro control se realizó con la administración de aceite de oliva extra virgen (Carbonelli, México) y el registro con testosterona se realizó dos días después y mediante la vía de administración subcutánea de propionato de testosterona (MilliporeSigma, Estados Unidos de América), a una concentración de 2 mg/Kg. Se grabó la actividad conductual de cada rata mediante una cámara de video-filmación (Sony, Japón) en sincronía con el programa de registro del EEG. Se utilizó el programa de cómputo GRAEL LT System, (Compumedics®, Reino Unido) para el registro de EEG y el ulterior análisis de las descargas espiga-onda empleando el software Profusion Sleep (Compumedics®, Reino Unido) bajo un sistema operativo Windows® (véase Figura 20).



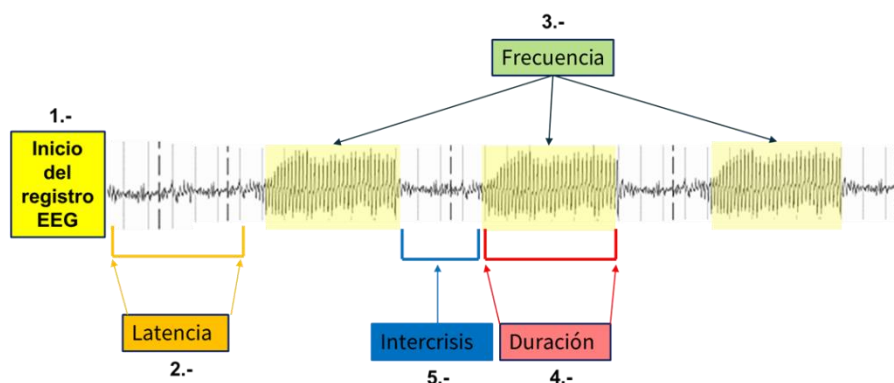
**Figura 20. Registro electroencefalográfico en una rata taiep macho adulta.** El registro se realizó en **A)** una jaula con un sistema móvil colocada en un cuarto sonoamortiguado y en condiciones controladas. Note la flecha roja señalando los electrodos. En **B)** Se muestra una descarga espiga-onda (sombreada en color amarillo). Cx: corteza, Hp: Hipocampo, CA1, EMG: electromiograma y EOG: electrooculograma.

## Criterios de identificación de las descargas espiga-onda

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

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

Una vez identificadas las crisis de ausencia se analizó; la frecuencia de las descargas: el número de descargas espiga-onda cada dos horas, la duración de las descargas: tiempo que dura cada descarga espiga-onda y la latencia a la primera descarga espiga-onda: el tiempo desde que inicia el registro 08:00 h hasta la aparición de la primera crisis de ausencia (Figura 21). Así como el número total de crisis durante las 24h del registro y el periodo intercrisis.



**Figura 21. Esquematización de las variables.** 1.- Inicio de los registros electroencefalográficos a las 08:00 h, 2.- Latencia al primer evento de descarga espiga-onda, 3.- Frecuencia de las descargas espiga-onda, 4.-Duración de cada descarga espiga-onda y 5.- Periodo intercrisis. Las descargas espiga onda se muestran sombreadas en color amarillo.

## Análisis estadístico

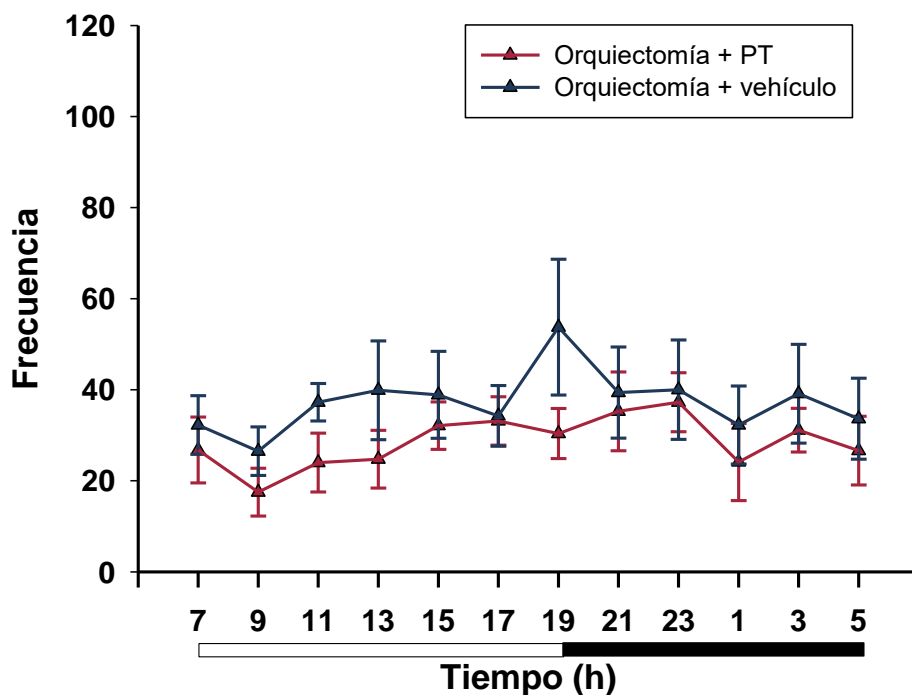
Se empleó el programa Sigma Plot versión 13.0 (Systat Software Inc., Estados Unidos de América) para graficar la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia y la duración cada dos horas, así como, la latencia al primer evento de descarga espiga-onda, el periodo intercrisis y el total de las descargas espiga-onda.

La frecuencia, la duración, la latencia, el periodo intercrisis y el total de las descargas espiga-onda, se analizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 22.0 (IBM, Estados Unidos de América) mediante la prueba  $t$  de Student para muestras independientes cuando se compararon dos grupos. Se consideró como diferencia significativa cuando la probabilidad fue  $P \leq 0.05$ .

## Resultados

Efecto del propionato de testosterona en la frecuencia, duración y latencia de las descargas espiga-onda en machos orquiectomizados.

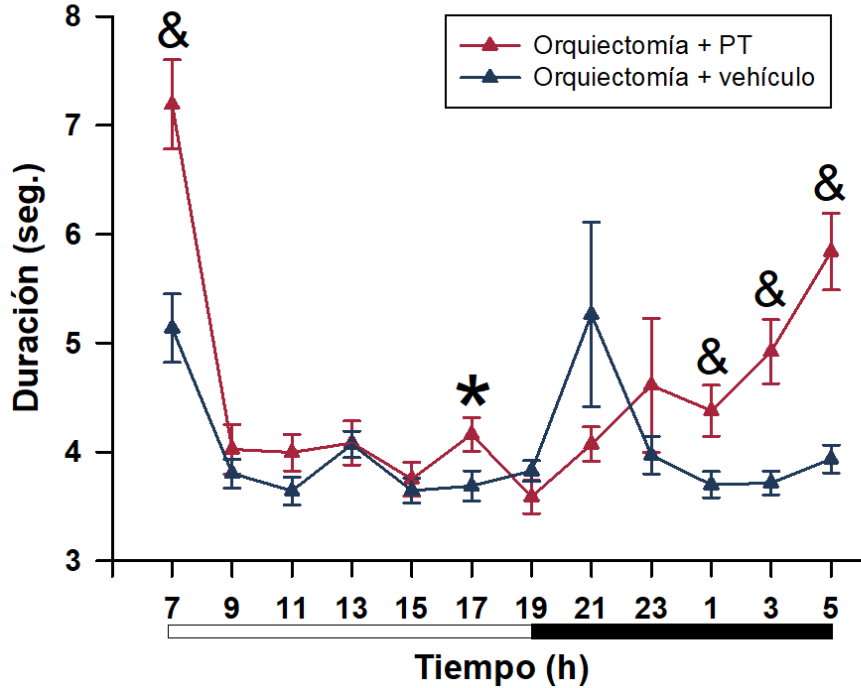
La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* macho adultos y orquiectomizados (n=8), no provocó cambios en la frecuencia de las DEO durante las primeras doce horas del registro electroencefalográfico (véase Figura 22).



**Figura 22. Efecto de la administración de propionato de testosterona sobre la frecuencia de las descargas espiga-onda.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona, no modificó la frecuencia de las DEO. La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra la fase oscura del ritmo circadiano. Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona

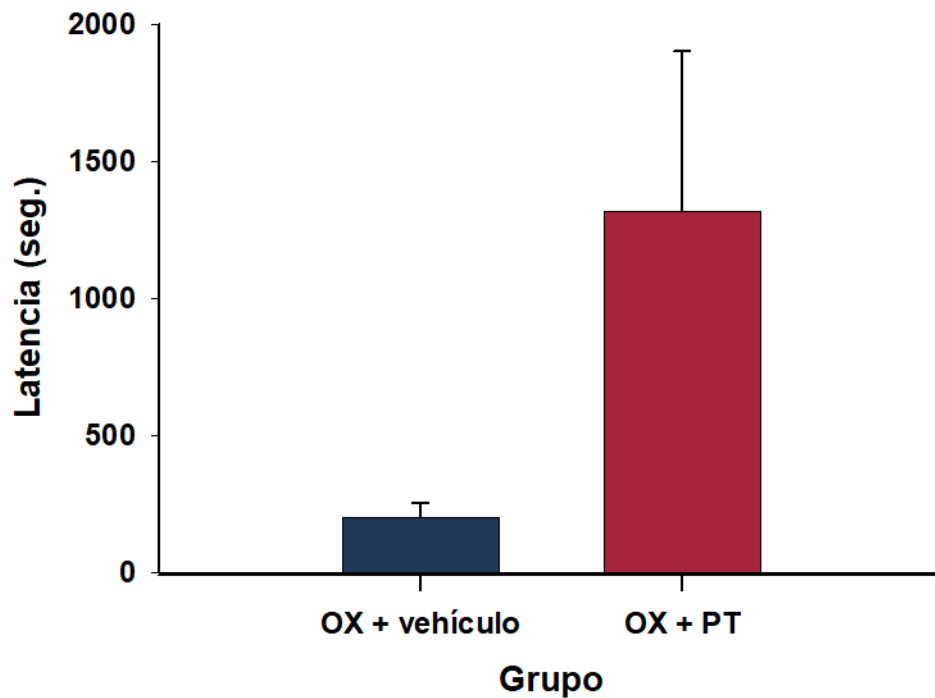
En cuanto a la duración de las crisis de ausencia, esta aumentó significativamente en los periodos de 07:00, 17:00, 01:00, 03:00 y 05:00 cuando se administraron 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* macho orquiectomizados. Siendo las 07:00, donde se obtuvo un aumento de hasta el 39.4% ( $7.1 \pm 0.4s$ ; prueba

de la *t* de Student,  $t_{(4.04)} = 472$ ,  $P < 0.01$ ) con respecto al grupo control ( $5.1 \pm 31$  s). (véase Figura 23).



**Figura 23. Efecto de la administración de propionato de testosterona sobre la duración de las descargas espiga-onda.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona, aumentó significativamente la duración de las DEO de ratas *taiep* macho orquiectomizadas, aumentando con un máximo del 39.4% a las 07:00 ( $7.2 \pm 0.4$ s; prueba de la *t* de Student,  $t_{(4.04)} = 472$ ,  $P < 0.01$ ) con respecto al grupo donde se administró vehículo ( $5.1 \pm 31$  s). La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra, la fase oscura del ritmo circadiano, \* $P < 0.05$  y &  $P < 0.001$ . Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona

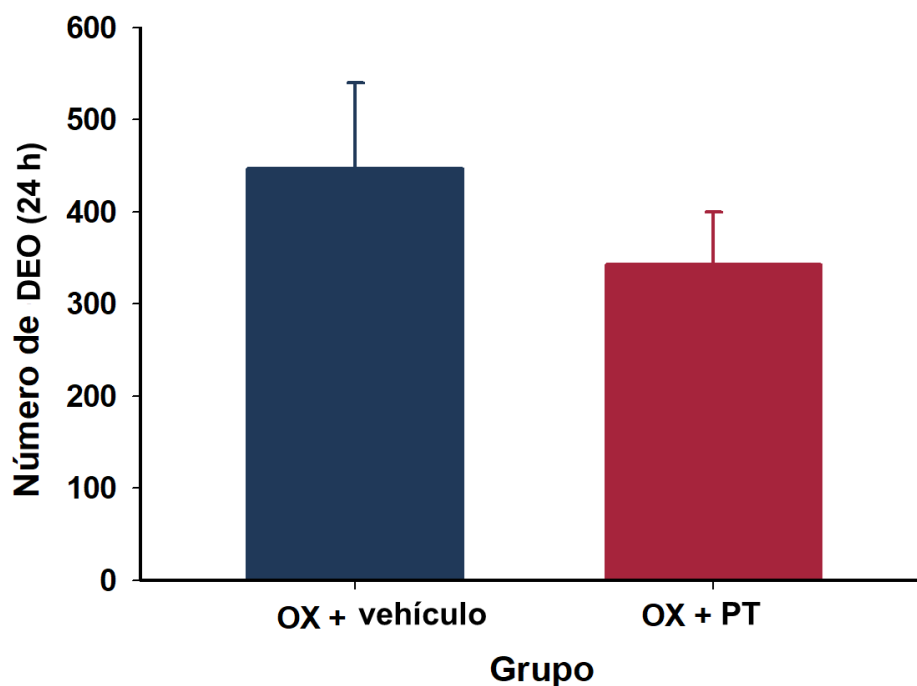
No se obtuvieron diferencias significativas en la latencia al primer evento de DEO entre los grupos en donde se administraron 2mg/Kg de propionato de testosterona y el grupo control (véase Figura 24).



**Figura 24. Efecto de la administración de propionato de testosterona sobre la latencia al primer episodio de descargas espiga-onda.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* machos orquiectomizados no promueve cambios en la latencia al primer episodio de DEO. Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. OX: Orquiectomía, PT: Propionato de testosterona

Efecto del propionato de testosterona en el número total de crisis de ausencia en machos orquiectomizados.

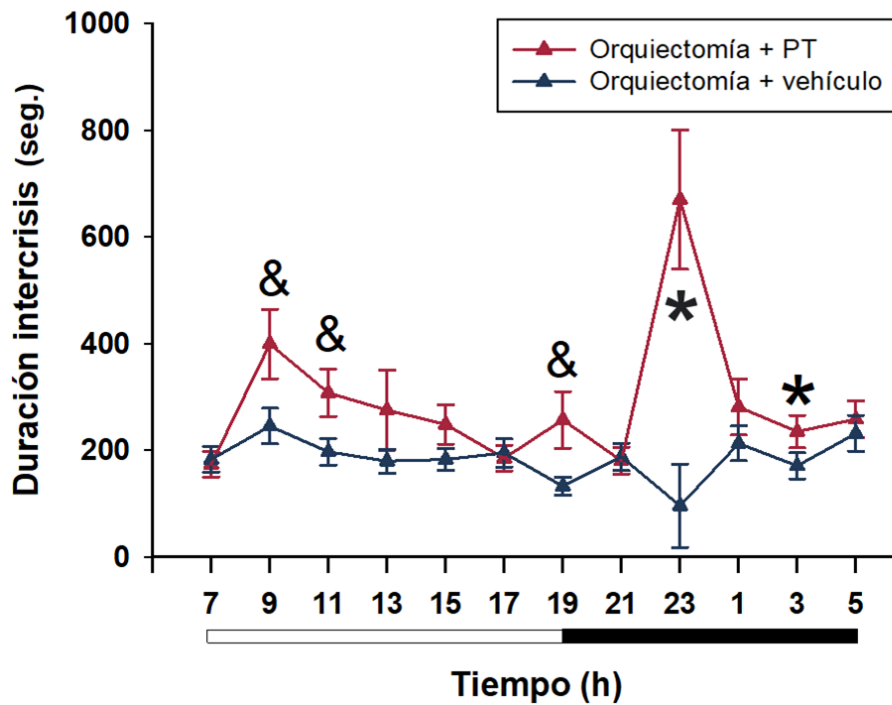
El número total de DEO durante las 24h de duración del registro electroencefalográfico, no se modificó cuando se administraron 2mg/Kg de propionato de testosterona en comparación con el grupo control (véase Figura 25).



**Figura 25. Efecto de la administración de propionato de testosterona el número total de descargas espiga-onda.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* machos orquiectomizados no mostró un cambio en el número total de DEO durante las 24h de duración del registro electroencefalográfico. Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. OX=Orquiectomía. PT: Propionato de testosterona

### Efecto del propionato de testosterona en el periodo intercrisis de machos orquiectomizados.

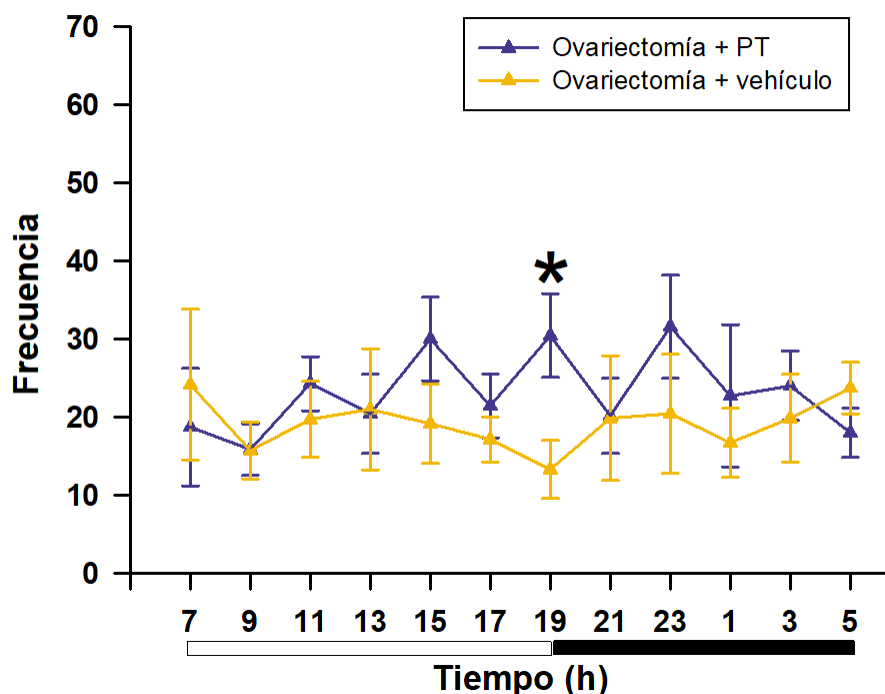
La administración de propionato de testosterona en machos orquiectomizados aumentó de manera significativa el periodo intercrisis en los periodos 09:00, 11:00, 19:00, 23:00 y 03:00. Siendo las 23:00 el periodo de aumento máximo, de hasta el 605% ( $669 \pm 130.5$  s; prueba de la  $t$  de Student,  $t_{(-1.03)} = 616$ ,  $P < 0.05$ ) con respecto al grupo control ( $95 \pm 78$  s; véase Figura 26).



**Figura 26. Efecto de la administración de propionato de testosterona el periodo intercrisis de ratas *taiep* macho orquiectomizadas.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona, aumentó significativamente el periodo intercrisis de ratas macho orquiectomizadas en los periodos de 09:00, 11:00, 19:00, 23:00 y 03:00. Aumentando un máximo del 605% a las 23:00 ( $669 \pm 130.5$  s; Prueba de la t de student,  $t_{(-1.03)} = 616$ ,  $P < 0.05$ ) con respecto al grupo donde se administró vehículo ( $95 \pm 78$  s). La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra, la fase oscura del ritmo circadiano, \* $P < 0.05$  y & $P < 0.001$ . Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona

Efecto del propionato de testosterona en la frecuencia, duración y latencia de las descargas espiga-onda en hembras ovariectomizadas.

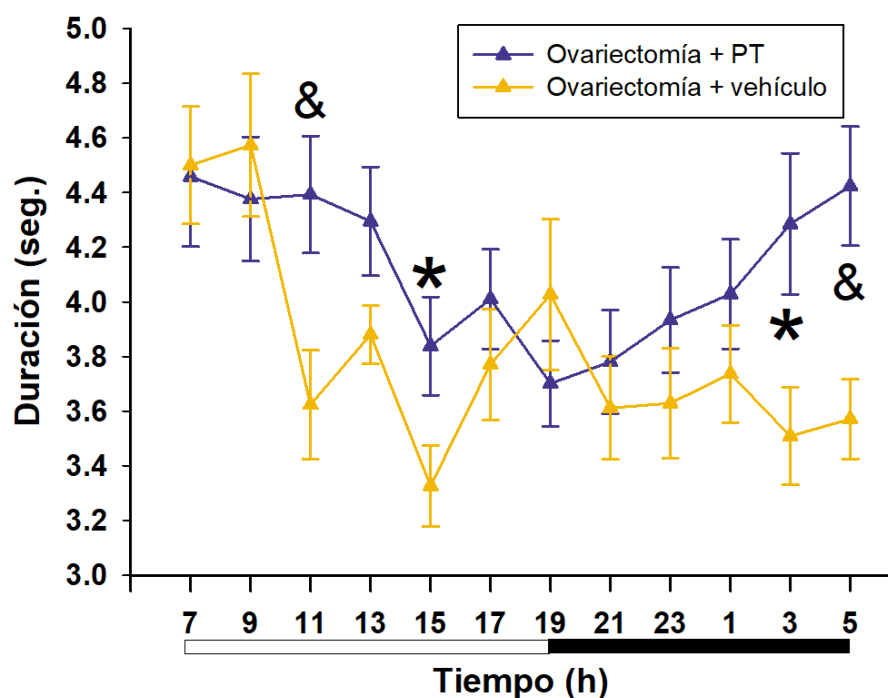
La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* hembra adultas y ovariectomizadas ( $n=8$ ), provocó un aumento significativo de la frecuencia de las DEO a las 19:00 ( $30.4 \pm 5.3s$ ; prueba de la t de Student,  $t_{(2.62)} = 12$ ,  $P < 0.05$ ), con respecto al grupo control ( $13.29 \pm 3.73s$ ). (véase Figura 27).



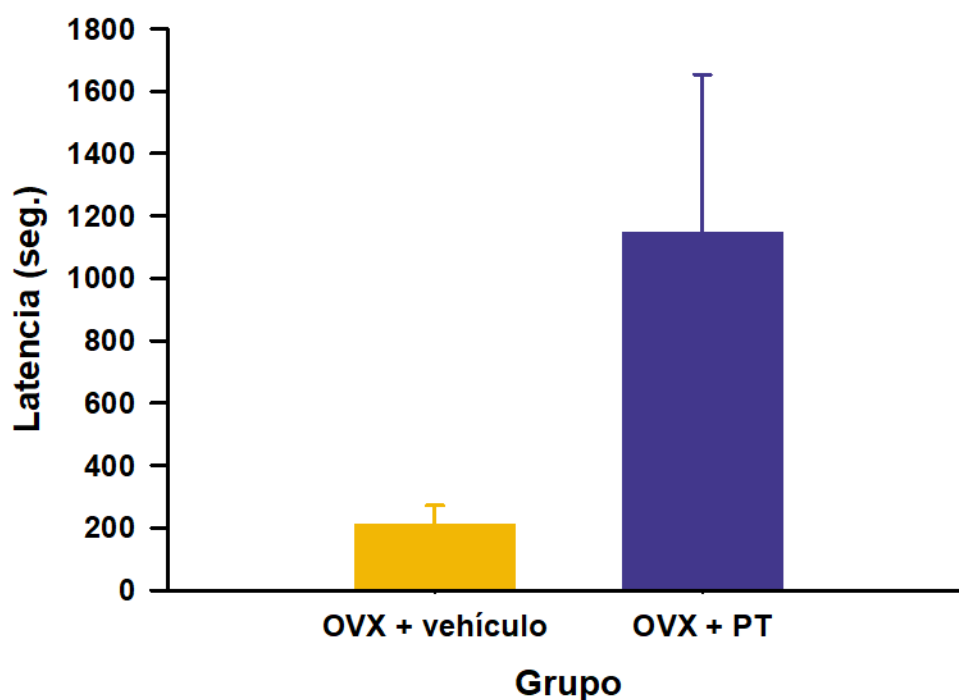
**Figura 27. Efecto de la administración de propionato de testosterona sobre la frecuencia de las descargas espiga-onda.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona, aumentó significativamente la frecuencia de las DEO en ratas *taiep* hembras ovariectomizadas a las 19:00 ( $30.4 \pm 5.3s$ ; prueba de la *t* de Student,  $t_{(2.62)} = 12$ ,  $P < 0.05$ ), con respecto al grupo control ( $13.3 \pm 3.7s$ ). La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra la fase oscura del ritmo circadiano, \* $P < 0.05$ . Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona

La duración, la administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona produjo un aumento significativo en la duración de las DEO de las ratas *taiep* hembra ovariectomizadas a las 11:00, 15:00, 03:00 y a las 05:00 con un aumento máximo del 21.27% a las 11:00 ( $4.39 \pm 0.2 s$ ; prueba de la *t* de Student,  $t_{(2.58)} = 306$ ,  $P < 0.01$ ), en comparación con el grupo control ( $3.62 \pm 0.20 s$ , véase Figura 28).

Finalmente, al evaluar la latencia al primer episodio de descarga espiga-onda, no se mostraron resultados estadísticamente significativos, a pesar de que se observa la tendencia a aumentar, en el grupo donde se administró propionato de testosterona en relación con el grupo control (prueba de *t* de Student  $t_{(4)} = 1.00$ ,  $P \leq 0.3$ , véase Figura 29).



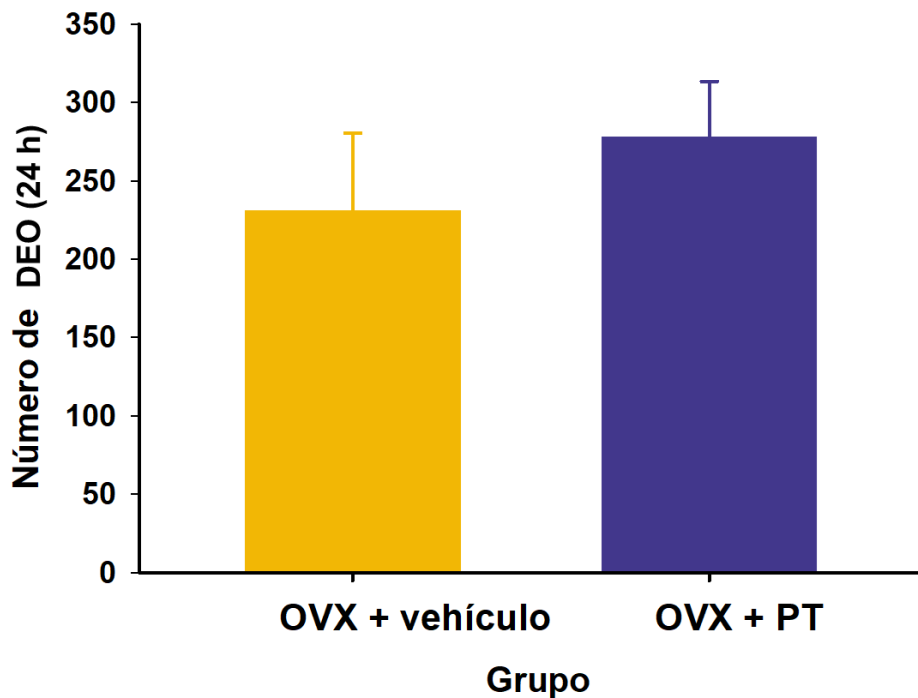
**Figura 28. Efecto de la administración de propionato de testosterona sobre la duración de las descargas espiga-onda.** Se observa un aumento significativo en la duración de las DEO las 11:00, 15:00, 03:00 y a las 05:00 en el grupo donde se administraron 2 mg/Kg de propionato de testosterona, con aumento máximo a las 11:00 de hasta el 21.27% ( $4.4 \pm 0.2$  s; prueba de la  $t$  de Student,  $t_{(2.58)} = 306$ ,  $P < 0.05$ ) en relación con el grupo control. La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra la fase oscura del ritmo circadiano, \* $P < 0.05$  y & $P < 0.001$ . Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona



**Figura 29. Efecto de la administración de propionato de testosterona sobre la latencia al primer episodio de descargas espiga-onda.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* hembra ovariectomizadas mostró un aumento no estadísticamente significativo en la latencia al primer episodio de DEO en relación con el control. OVX=Ovariectomía. Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona

### Efecto del propionato de testosterona en el número total de descargas espiga-onda en hembras ovariectomizadas.

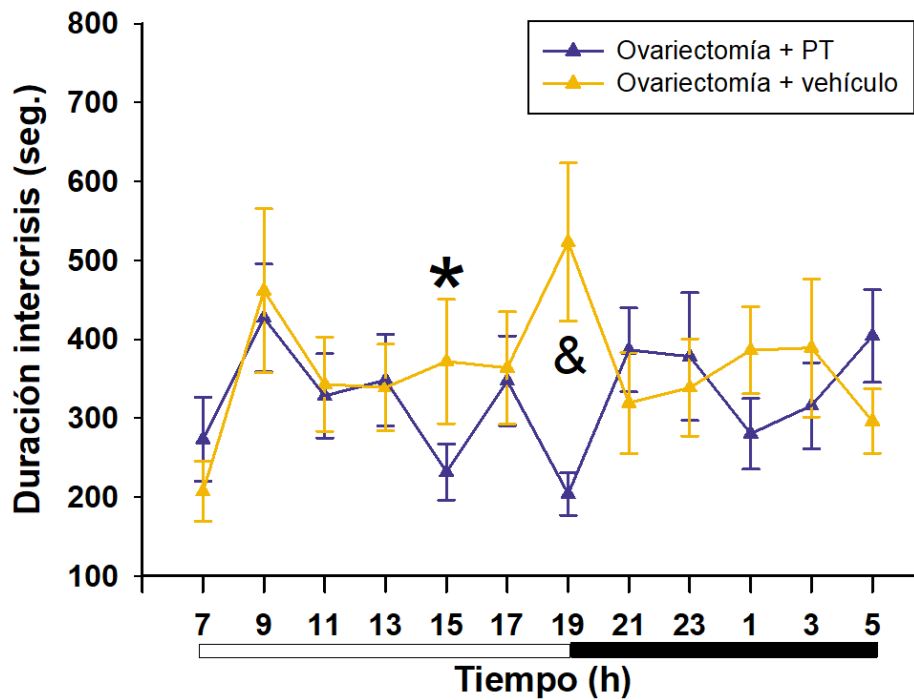
Al analizar el número total de las DEO en ratas *taiep* hembra ovariectomizadas, durante las 24h de duración del registro electroencefalográfico, no se obtuvieron diferencias significativas cuando se les administraron 2mg/Kg de propionato de testosterona en comparación con el grupo control (véase Figura 30).



**Figura 30. Efecto de la administración de propionato de testosterona sobre el total de descargas espiga-onda.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* hembra ovariectomizadas no se obtuvieron cambios significativos sobre el total de las DEO durante el registro electroencefalográfico en relación con el grupo donde se administró el vehículo. OVX=Ovariectomía. Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona

### Efecto del propionato de testosterona en el periodo intercrisis en hembras ovariectomizadas.

La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas hembra *taiep* ovariectomizadas, disminuyó significativamente el intervalo intercrisis en los periodos 15:00 y 19:00. Siendo las 19:00 el intervalo donde se alcanzó la disminución de hasta el 157.5% ( $203 \pm 26.8$  s; prueba de la  $t$  de Student,  $t_{(-3.73)} = -303$ ,  $P < 0.01$ ), en comparación con el grupo control ( $522.2 \pm 100.1$  s, véase Figura 31).



**Figura 31. Efecto de la administración de propionato de testosterona el periodo intercrisis de ratas taiep hembra ovariectomizadas.** La administración de 2 mg/Kg de propionato de testosterona, disminuyó significativamente el intervalo intercrisis de ratas macho orquiectomizadas en los intervalos de 15:00 y 19:00. Aumentando hasta el 157.5% a las 23:00 ( $203 \pm 26.88$  s; prueba de la t de Student,  $t_{(-3,73)} = 303$ ,  $P < 0.01$ ) con respecto al grupo donde se administró vehículo ( $522.22 \pm 100.12$  s). La barra blanca muestra la fase de luz y la barra negra, la fase oscura del ritmo circadiano,  $*P < 0.05$  y  $\& P < 0.001$ . Los resultados son la media  $\pm$  EEM de 8 ratas por grupo. PT: Propionato de testosterona

## Discusión

Los mecanismos fisiopatológicos de las crisis de ausencia en humanos no son del todo claros. La gran mayoría de los estudios se enfocan en explicar los neurotransmisores, canales iónicos y los receptores que participan en la etiología de esta enfermedad (Akyuz y *co/s.*, 2021). Sin embargo, los tratamientos actuales, no ofrecen una remisión completa de las crisis de ausencia, dado que el 30% son farmacorresistentes (Raut y Bhatt, 2020).

Es por ello, que la determinación de las causas fisiopatológicas de las descargas corticales es fundamental para la generación de nuevas opciones de tratamiento (Christian y *co/s.*, 2020; Raut y Bhatt, 2020).

Recientemente, se ha comenzado a estudiar el posible rol de las hormonas sexuales en la epilepsia, debido a las diferencias sexuales en el inicio, desarrollo y tratamiento de esta patología (van Luijtelaar y *co/s.*, 2014). No obstante, gran parte de los trabajos donde se analiza la relación hormonas-epilepsia, se concentra en explicar las disfunciones sexuales y bajas concentraciones hormonales causadas por algunos fármacos antiepilépticos y no en su fisiopatología o en los efectos sobre los circuitos neuronales que le subyacen (Svalheim y *co/s.*, 2015a).

En el presente trabajo, mostramos por primera vez, la participación de la testosterona en el inicio y desarrollo de las descargas espiga-onda, en un modelo de animal de experimentación adulto.

### Rol de la testosterona en las descargas espiga-onda en machos orquiectomizados.

La mayoría de los trabajos en la literatura donde se estudia la relación testosterona-epilepsia, se enfocan en estudiar los cambios en las concentraciones plasmáticas de las hormonas sexuales cuando se administran los fármacos antiepilépticos (Svalheim y *co/s.*, 2015b).

De hecho, en humanos, se ha reportado un aumento en las concentraciones de testosterona sérica libre en pacientes epilépticos que fueron tratados con ácido

valproico, en comparación con pacientes no epilépticos, a los cuales no se les administró ningún fármaco (Rabie y *cols.*, 2016). Lo mismo sucede con carbazepina un bloqueador de los canales de sodio (Rättyä y *cols.*, 2001) y Levetiracetam una benzodiazepina que reduce la liberación de calcio interneuronal (Harden y *cols.*, 2010). En contraste, se ha observado una disminución en los niveles séricos de testosterona en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal y que son farmacorresistentes (Mejías-Aponte y *cols.*, 2002).

En modelos animales de crisis de ausencia, los datos aún no son claros, dado que no hay ningún estudio donde se observe la participación de la testosterona en la epileptogénesis y mantenimiento de las DEO. Sin embargo, ha mostrado tener efectos proconvulsivos o anticonvulsivos según el modelo animal empleado y el tipo de epilepsia (Frye y Reed, 1998; Herzog, 2000; Reddy, 2004b).

Los niveles séricos normales de testosterona en hombres, oscila entre 15 a 30 nmol/L (Mohr y *cols.*, 2005), mientras que, en las ratas macho adultas de la cepa Sprague-Dawley, oscila entre los 5 y los 12 nmol/L (Mock y *cols.*, 1978). En la rata *taiep* hembra adulta, los niveles séricos de testosterona oscilan entre los 2 nm/L y los 3 nmol/L (Muñoz-de-la-Torre y *cols.*, 2018). No obstante, en los machos *taiep* aún no se cuantifican los niveles séricos de testosterona.

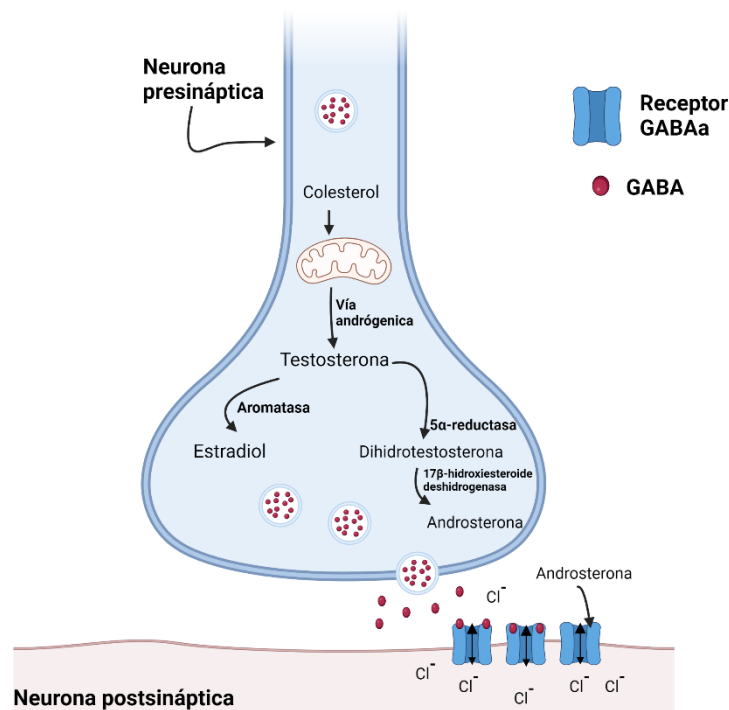
La frecuencia en las crisis de ausencia es comandada por neuronas GABAérgicas de la corteza somatosensorial y de la porción rostral del núcleo reticular talámico (Van Luijtelaaar y *cols.*, 2011). Las capas profundas de la corteza cerebral y el núcleo reticular talámico se inhiben entre sí mediante neuronas del tipo GABAérgicas, generando un acople inhibitorio reverberante, provocando así, un rebote postinhibitorio, lo que produce ráfagas de potenciales de acción que se transmiten de vuelta hacia la corteza cerebral dando origen a las descargas espiga-onda (Lüttjohann y Van Luijtelaaar, 2015; Jarre y *cols.*, 2017).

Así mismo, la administración de propionato de testosterona no modificó significativamente la frecuencia de las DEO. Nuestros resultados contrastan con lo reportado después con la administración de androsterona en crisis inducidas por descarga eléctrica (Tutka y *cols.*, 2019), esto debido a la modulación alostérica

positiva, que mantiene abierto el receptor de GABA<sub>A</sub>, permitiendo la entrada de una corriente hiperpolarizante de cloro, que disminuye las descargas epileptogénicas (Reddy y cols., 2021). A pesar de lo anterior, la modulación alostérica por parte de la testosterona parece no ser suficiente para disminuir por completo la frecuencia de las DEO, por lo que es probable que, la administración en conjunto con algún fármaco antiepiléptico refuerce la acción antiepiléptica de la testosterona, como se ha reportado en otros trabajos, donde la administración en conjunta testosterona y fármacos antiepilépticos ha demostrado disminuir las DEO (Mróz y cols., 2009; Tutka y cols., 2019).

En este trabajo, se realizaron orquiectomías con el fin de eliminar la liberación hormonal de testosterona por parte de las gónadas, no obstante, se ha descrito en la literatura, que la testosterona puede ser sintetizada *de novo* en el sistema nervioso central (Fester y Rune, 2021), por lo que la testosterona puede interactuar con la enzima aromatasa para ser convertida en estradiol (con actividad proepiléptica ;Reddy, 2004), o bien, con la enzima 5 $\alpha$ -reductasa y ser transformada en dihidrotestosterona, y consecuentemente a androsterona con actividad antiepiléptica (Mróz y cols., 2009; Tutka y cols., 2019; véase Figura 32). Por otro lado, la testosterona también puede ser metabolizada a 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (5 $\alpha$ -DHT), el cual es un andrógeno no aromatizable y que ha mostrado capacidad antiepiléptica en un modelo animal de crisis tónico-clónicas inducidas por ácido kaínico (Iqbal y cols., 2018). Por lo tanto, es posible considerar que la testosterona puede ejercer un efecto dual en el desarrollo de las DEO, dependiendo la ruta metabólica que siga.

De igual manera, debemos considerar que la administración de testosterona en este trabajo es aguda, se ha observado que, la modulación alostérica es dependiente de la concentración hormonal (Reddy y Jian, 2010). En futuros trabajos, será importante evaluar la exposición prolongada de testosterona por medio de administración crónica.



**Figura 32. Síntesis de testosterona en el cerebro y su participación en la modulación alostérica de los receptores GABAa.** La testosterona puede ser sintetizada en el sistema nervioso central por la vía androgénica dependiente de colesterol. Una vez sintetizada la testosterona, puede ser transformada a estradiol a través de la enzima aromatasa o en dihidrotestosterona por la enzima 5α-reductasa y posteriormente en androsterona por la acción enzimática de 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa. Debido a su naturaleza lipídica, la androsterona puede ser liberada al espacio intersináptico donde ejerce sus acciones antiepilépticas a través de la modulación de los receptores GABAa.

En los humanos, la duración en las crisis de ausencia está relacionada con las vías neuronales, la gravedad, el manejo clínico y el tipo de epilepsia (Schroeder y cols., 2020, 2022). En general, las crisis focales tienen una duración menor que las crisis generalizadas del tipo tónico-clónico (Burns y cols., 2014), sin embargo también se ha descrito que la duración de las crisis de ausencia puede variar incluso en el mismo individuo (Schroeder y cols., 2022). En lo que respecta a las crisis de ausencia y en los modelos animales, no es claro aún que mecanismos están involucrados en la duración de las crisis, pero se sabe que el circuito tálamo-cortical es la pieza clave. Por tanto, la modulación alostérica de la testosterona en el circuito

tálamo-cortical podría explicar los cambios en la duración de DEO observados en nuestros resultados.

En estudios de tipo farmacológico en la rata GAERS y WAG/Rij, se ha demostrado que, la administración de fármacos que actúan sobre el sistema GABAérgico y modulan la actividad del núcleo reticular talámico, aumentan la duración de las crisis de ausencia, a través del aumento en las concentraciones extracelulares de GABA (Bouwman y cols., 2007; Russo y cols., 2011). Mientras que, en la rata *taiep* la administración sistémica de gaboxadol un agonista del receptor GABA<sub>A</sub>, incrementa la duración y la frecuencia de las DEO, en cambio la administración de bicuculina un potente agonista del mismo receptor reduce la duración y frecuencia de las DEO (Ibarra-Hernández, 2018).

En el presente trabajo, la frecuencia de las DEO no disminuyó y la duración aumentó significativamente, lo que nos lleva a pensar que las vías de inicio y mantenimiento de las crisis de ausencia en la rata *taiep*, se modulan de manera diferente y responden de manera diferencial a la testosterona. Por lo que es posible que en el inicio de las crisis de ausencia la testosterona module alostéricamente al receptor GABA<sub>A</sub>, activando la vía no genómica de los andrógenos, mientras que, para el mantenimiento de las crisis, sea por los cambios en la activación de la vía clásica y consecuentemente los cambios en el potencial de membrana.

En nuestros resultados, también observamos que, el aumento en la duración de las descargas espiga-onda, tenía lugar principalmente en las horas de transición de la fase luz hacia la fase de oscuridad, siendo las 07:00, el punto acmé de la duración de las DEO, en el grupo que recibió el propionato de testosterona.

Por un lado, es claro que existe una estrecha relación entre las descargas espiga-onda y el sueño (Kellaway, 2014). En humanos, las crisis de ausencia suelen aparecer durante las transiciones de la vigilia hacia el sueño, y particularmente durante las primeras fases del sueño de ondas lentas, mostrando un incremento máximo en las primeras horas de la mañana (Kostopoulos, 2000; Kellaway, 2014), de manera similar a lo que observamos en este trabajo. En lo que concierne a la rata *taiep*, se ha descrito que sus patrones sueño-vigilia se encuentran alterados a

lo largo de 24 horas, mostrando un tiempo de sueño con movimientos oculares rápidos (MOR) reducido y fragmentado con mayor proporción en la fase de oscuridad con respecto a la fase de luz (Cortés, 2012). Así mismo, se ha descrito que, tanto en humanos como en ratas, la liberación de la testosterona sérica gonadal depende directamente del periodo de oscuridad, con un nivel mínimo durante la última hora de la tarde y niveles máximos durante las primeras horas de la mañana (Mock y cols., 1978; Morgan y Tsai, 2015). En concordancia, en experimentos con fragmentación del sueño, se ha mostrado un aumento nocturno en los niveles de testosterona sérica cuando no se alcanza el sueño MOR (Luboshitzky y cols., 1999). Adicionalmente, los receptores GABA<sub>A</sub> son un blanco tanto para los tratamientos antiepilépticos, como para algunos trastornos del sueño (Reddy y cols., 2018), por lo tanto, la modulación mediada por testosterona en los receptores GABA<sub>A</sub> pudo ejercer efectos sobre el ciclo luz-oscuridad de la rata *taiep* y viceversa.

### Rol de la testosterona en las descargas espiga-onda en hembras ovariectomizadas.

En las hembras, los trabajos donde se ha analizado el papel hormonal de las DEO son escasos, de hecho, no hay trabajos donde se explore la participación de la testosterona en el inicio y mantenimiento de las descargas espiga-onda.

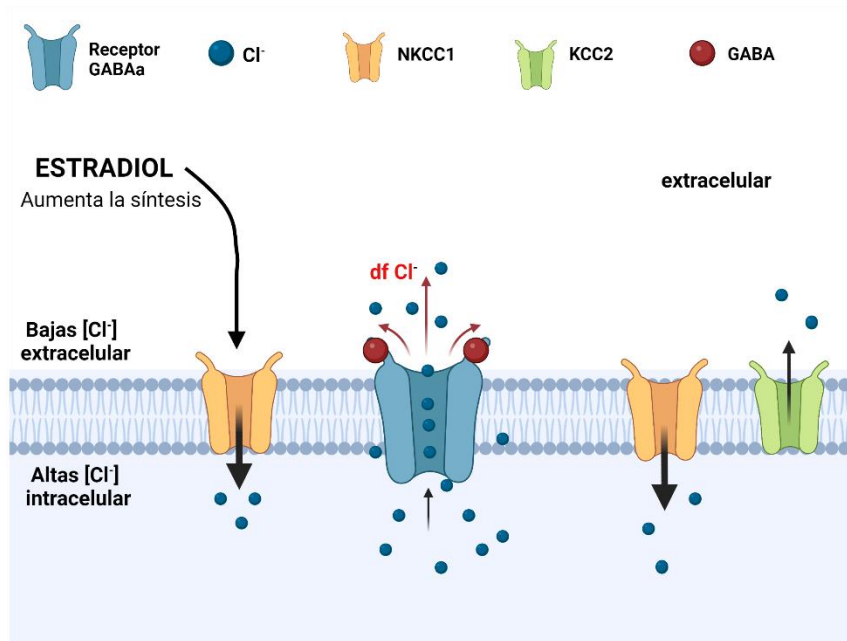
Con nuestros resultados mostramos que, la administración del propionato de testosterona aumentó significativamente la frecuencia de las descargas espiga-onda a las 19:00 y manteniéndose durante las siguientes horas, en contraste con lo que observamos en los machos, donde la administración del propionato de testosterona mostró disminuir la frecuencia de las descargas espiga-onda.

En trabajos previos de nuestro laboratorio, se demostró que los efectos organizacionales debidos a la testosterona, durante la diferenciación sexual del cerebro en los primeros días de vida, afectan la frecuencia de las DEO en la etapa adulta (Porro, 2019; Cortes y cols., 2022), aunado al hecho de que existe un dimorfismo sexual en la expresión de las DEO en la rata *taiep*, lo que nos permite

inferir que las vías neuronales cortico-talámicas y los mecanismos fisiopatológicos implicados en la generación y mantenimiento de las DEO, son diferentes entre los machos y las hembras *taiep*.

Los efectos organizacionales durante la diferenciación sexual del cerebro, dan lugar a cambios en ambos sexos, en las vías neuronales, incluyendo la acción de neurotransmisores, sinapsis, muerte celular e incluso cambios en la morfología de núcleos hipotalámicos (McCarthy y Arnold, 2011; McCarthy, 2012; McCarthy *y cols.*, 2017). Por lo que no es raro que la respuesta a la exposición de testosterona sea diferente entre los machos y las hembras.

En otro orden de ideas, como se mencionó anteriormente, una vez en el sistema nervioso central, la testosterona puede ser transformada en estradiol por la enzima aromatasa. Se ha demostrado que en ratas hembra ovariectomizadas, el estradiol induce a la activación del gen que conduce la síntesis ribosómica del cotransportador de cationes-cloruro NKCC1, pero no del cotransportador KCC2 (Nakamura *y cols.*, 2005), esto es relevante debido al hecho de que el cotransportador NKCC1 facilita la entrada de iones cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) en el interior de la neurona, mientras que el cotransportador KCC2 promueve la salida de iones cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) de la neurona (Kight y McCarthy, 2014). Por tanto, un desequilibrio en la producción del cotransportador NKCC, permitiría la acumulación excesiva de iones cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), lo que aumentaría el potencial de inversión para el ión cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), transformando la sinapsis inhibitoria de GABA, en una sinapsis excitatoria (Figura 33).



**Figura 33. El estradiol induce la síntesis del cotransportador NKCC1, modificando la acción del neurotransmisor GABA en ratas ovariectomizadas.** La testosterona puede ser transformada en estradiol vía la enzima aromatasa. El estradiol induce la síntesis del cotransportador NKCC1, lo cual aumenta las concentraciones de Cl<sup>-</sup> intracelular, cambiando el potencial de membrana de la neurona. La activación de los receptores GABA<sub>A</sub>, produce una fuerza impulsora en la corriente de Cl<sup>-</sup> (df Cl<sup>-</sup>), despolariando la neurona y generando una sinapsis excitatoria. Modificado de Kight y McCarthy, 2014.

Los cambios en la transmisión de la vía GABAérgica inducidos por la administración de propionato de testosterona en la rata *taiep* hembra ovariectomizadas podrían explicar el aumento en la frecuencia de las descargas espiga onda, obtenido en el presente trabajo de tesis.

Lo anterior mencionado concuerda con lo reportado en la literatura, que muestra que la administración de letrozol, un inhibidor de la enzima aromatasa en ratones, disminuyó las crisis tónico-clónicas en un modelo de epilepsia inducido por la administración sistémica de ácido kaínico (Reddy, 2004b), por lo que se ha propuesto que la acción proepiléptica de la testosterona se debe a su conversión en estradiol (van Luijtelaar y cols., 2014).

Contrastantemente, en estudios *in vitro*, se ha descrito que la administración de estradiol en ratas macho, modificó la excitabilidad neuronal en el área CA<sub>1</sub> del hipocampo; mientras que, en las hembras la excitabilidad neuronal fue modificada

solamente después de la administración de testosterona (Teyler y cols., 1980). Esta evidencia sugiere que, los efectos neuromoduladores de la testosterona y el estradiol, pueden diferir entre sexos y entre los diferentes grupos neuronales

Adicionalmente, se conoce que la expresión de aromatasa en el cerebro es diferente entre los machos y las hembras (Blakemore y Naftolin, 2016; Spool y cols., 2022). De hecho, los niveles de la enzima aromatasa se expresan de manera sexualmente dimórfica en el hipotálamo, el hipocampo y en la corteza cerebral (McCarthy, 2009). Las ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, tienen mayor expresión de la aromatasa en hipotálamo y la amígdala en comparación con las hembras, además la orquiectomía disminuyó los niveles de la aromatasa, pero se recuperaron poco después de la administración sistémica de testosterona, por lo que la síntesis de la aromatasa depende directamente de la testosterona (Roselli y cols., 1985). En humanos, no se han observado diferencias en la expresión de la enzima aromatasa.

En este trabajo se muestra por primera vez la participación de la testosterona en las DEO, en conjunto estos resultados muestran que, los mecanismos de inicio y mantenimiento de las DEO en la rata *taiep* macho y en la rata *taiep* hembra difieren entre sí y además pueden ser modificados en presencia de testosterona, debido a sus efectos activacionales en el circuito tálamo-cortical.

En un futuro, será importante medir los niveles séricos de testosterona en ratas *taiep*, además de analizar la administración crónica de testosterona, con el fin de obtener nueva información acerca de los mecanismos fisiopatológicos y el dimorfismo sexual en la rata *taiep*.

## Conclusiones

- La testosterona incrementa la duración de las descargas espiga-onda en las ratas *taiep* hembras o machos.
- La testosterona aumenta significativamente la frecuencia de las descargas espiga-onda en las ratas *taiep* hembra, mientras que, en los machos las disminuyó.
- En base a estos resultados, se propone que el circuito cortico-talámico, probablemente es modulado por la testosterona de manera sexualmente dimórfica.

## Bibliografía

Acevedo, C. and Miranda, C. (2008). *Informe sobre la epilepsia en Latinoamérica. Organización Panamericana de la Salud. Panamá.*

Akyuz, E., Polat, A. K., Eroglu, E., Kullu, I., Angelopoulou, E. and Paudel, Y. N. (2021). Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sciences*. Elsevier Inc, **265**:1–48.

Alata, M., Piazza, V., Restrepo, C. J., Eguibar, J. R., Cortés, C. and Hernandez, V. H. (2022). H - ABC tubulinopathy revealed by label-free second harmonic generation microscopy. *Scientific Reports*, **12**:1–13.

Alvarado, E. S. H. (2021). *Caracterización de las crisis de ausencia en la rata taiep hembra adulta bajo la administración central de prolactina*. Tesis de Maestría. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

Andrade, N. R. (2022). *Efecto de la progesterona en la epilepsia del tipo de crisis de ausencia en la rata taiep*. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S. and Brooks, H. L. (2010). Fisiología endócrina y de la reproducción. En: *Fisiología médica. The McGraw-Hill Companies*, pp: 391-400

Baum, M. J., Brand, T., Ooms, M., Vreeburg, J. T. M. and Slob, A. K. (1988). Immediate Postnatal Rise in Whole Body Androgen Content in Male Rats: Correlation with Increased Testicular Content and Reduced Body Clearance of Testosterone<sup>1</sup>. *Biology of Reproduction*, **38**:980–986.

Behre, H. M., Wang, C., Handelsman, D. J. and Nieschlag, E. (2010). Pharmacology of testosterone preparations. En: *Testosterone*. Cambridge University Press, pp: 405–444.

Behre, H. M. and Nieschlag, E. (2012). Testosterone preparations for clinical use in males. En: *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. Cambridge University

Press, 309–335.

Bennett, N. C., Gardiner, R. A., Hooper, J. D., Johnson, D. W. and Gobe, G. C. (2010). Molecular cell biology of androgen receptor signalling. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **42**:813–827.

Berridge, M. J. (2014). Ion Channels. *Cell Signalling Biology*, **6**:csb0001003.

Biagini, G., Rustichelli, C., Curia, G., Vinet, J., Lucchi, C., Pugnaghi, M. and Meletti, S. (2013). Neurosteroids and epileptogenesis. *Journal of Neuroendocrinology*, **25**:980–990.

Blakemore, J. and Naftolin, F. (2016). Aromatase : contributions to physiology and disease in women and men. *Physiology*, **31**:258–269.

Bormann, J. (2000). The ‘ABC’ of GABA receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, **21**:16–19.

Bouwman, B. M., Suffczynski, P., Midzyanovskaya, I. S., Maris, E., van den Broek, P. L. C. and van Rijn, C. M. (2007). The effects of vigabatrin on spike and wave discharges in WAG/Rij rats. *Epilepsy Research*, **76**:34–40.

Budziszewska, B., Luijtelaar, G. Van, Coenen, A. M. L., Les, M. and Lason, W. (1999). Effects of neurosteroids on spike-wave discharges in the genetic epileptic WAG/Rij rat. *Epilepsy Research*, **33**:23–29.

Burns, S. P., Santaniello, S., Yaffe, R. B., Jouny, C. C. and Crone, N. E. (2014). Network dynamics of the brain and influence of the epileptic seizure onset zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **49**:321–330.

Carver, C. M. and Reddy, D. S. (2013). Neurosteroid interactions with synaptic and extrasynaptic GABA<sub>A</sub> receptors: Regulation of subunit plasticity, phasic and tonic inhibition, and neuronal network excitability. *Psychopharmacology*, **230**:151–188.

Christian, C. A., Reddy, D. S., Maguire, J. and Forcelli, P. A. (2020). Sex differences in the epilepsies and associated comorbidities: Implications for use and development

of pharmacotherapies. *Pharmacological Reviews*, **72**:767–800.

Citraro, R., Russo, E., Di Paola, E. D., Ibbadu, G. F., Gratteri, S., Marra, R. and 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. and Van Luijckelaar, E. L. J. M. (1987). The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Research*, **1**:297–301.

Coenen, A. M. L. and 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.

Compagnone, N. A. and Mellon, S. H. (2000). Neurosteroids: Biosynthesis and function of these novel neuromodulators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **21**:1–56.

Cortés, C. (2012). *Estudio electroencefalografico de los episodios de inmovilidad en la rata taiep: Papel del sistema colinérgico*. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.

Cortés, C., Gavito, B., Ita, M. L., Valencia, J. and Eguibar, J. R. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on taiep rats. *Synapse*, **58**:95–101.

Cortés, C., Ibarra-Hernández, J. M., Grados Porro, E. and 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.

Couve, E., Cabello, J. F., Krsulovic, J. and 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. and Terry, J. R. (2011). Transition to absence seizures and the role of GABA A receptors. *Epilepsy Research*. Elsevier B.V., **97**:283–289.

Dana-Haeri, J., Oxley, J. and Richens, A. (1984). Pituitary responsiveness to

gonadotrophin-releasing and thyrotrophin-releasing hormones in epileptic patients receiving carbamazepine or phenytoin. *Clinical Endocrinology*, **20**:163–168.

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

Defeudis, F. V (1990). Overview-GABAA receptors. *Annals New York Academy of Sciences*, **585**:231–240.

Dorantes Cuéllar, A., Martínez Sibaja, C. and Blanno, Guzmán, A. (2012). Principios de endocrinología. En: *Endocrinología clínica*. Manual Moderno, pp: 693-699.

Durdiakova, J., Ostatnikova, D. and Celec, P. (2011). Testosterone and its metabolites - modulators of brain functions. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, **71**:434–454.

Eguibar, J. R. and Carmen Cortés (2010). El mutante de mielina taeip como un modelo de crisis de ausencia. *Gaceta Médica de México*, **146**:11–18.

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

Evenseth, L. S. M., Gabrielsen, M. and Sylte, I. (2020). The GABA<sub>B</sub> receptor—structure, ligand binding and drug development. *Molecules*, **25**:19.

Fertuzinhos, S., Legué, E., Li, D. and Liem, K. F. (2022). A dominant tubulin mutation causes cerebellar neurodegeneration in a genetic model of tubulinopathy. *Science Advances*, **8**:1–17.

Fester, L. and Rune, G. M. (2021). Sex neurosteroids: Hormones made by the brain for the brain. *Neuroscience Letters*, **753**.

Filová, B., Majzúnová, M., Malinová, M., Ostatníková, D., Celec, P. and Hodosy, J. (2012). Factors determining the kinetics of a single dose of testosterone in rats. *Archives of Biological Sciences*, **64**:859–864.

Fine, A. and Wirrell, E. C. (2020). Seizures in Children. *Pediatrics in review*, **41**:322–

347.

Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M. and Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, **55**:475–482.

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. T. and Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, **58**:531–542.

Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E. and Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, **58**:522–530.

Fletcher, C. F., Lutz, C. M., O'Sullivan, T. N., Shaughnessy, J. D., Hawkes, R., Frankel, W. N., Copeland, N. G. and Jenkins, N. A. (1996). Absence epilepsy in tottering mutant mice is associated with calcium channel defects. *Cell*, **87**:607–617.

Friedman, M. J. and Shariëff, G. Q. (2006). Seizures in Children. *Pediatric Clinics in North America*, **53**:257–277.

Frye, C. A. and Reed, T. A. W. (1998). Androgenic neurosteroids: Anti-seizure effects in an animal model of epilepsy. *Psychoneuroendocrinology*, **23**:385–399.

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

Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortés, C., Eguibar, J. R., Pantano, S. and Hernandez, V. H. (2020a). MRI features in a rat model of H-ABC tubulinopathy. *Frontiers in Neuroscience*, **14**:1–12.

Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortés, C., Eguibar, J. R., Pantano, S. and Hernandez, V. H. (2020b). MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Frontiers in Neuroscience*, **14**:1–12.

Ghit, A., Assal, D., Al-shami, A. S. and Hussein, D. E. E. (2021). GABA A receptors : structure , function , pharmacology , and related disorders. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, **19**:1–15.

Gloor, P. (1968). Generalized cortico-reticular epilepsies some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia*, **9**:249–263.

Gonçalves, F. G., Freddi, T. de A. L., Taranath, A., Lakshmanan, R., Goetti, R., Feltrin, F. S., Mankad, K., Teixeira, S. R., Hanagandi, P. B. and Arrigoni, F. (2018). Tubulinopathies. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, **27**:395–408.

Gulinello, M. and Smith, S. S. (2003). Anxiogenic effects of neurosteroid exposure: Sex differences and altered GABAA receptor pharmacology in adult rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **305**:541–548.

Hall, J. E. (2018). Funciones reproductoras y hormonales masculinas (y función de la glándula pineal). En: *Fisiología médica*. Elsevier, pp: 2452-2487.

Harden, C. L., Nikolov, B. G., Kandula, P., Labar, D. R. and Pannullo, S. (2010). Effect of levetiracetam on testosterone levels in male patients. *Epilepsia*, **51**:2348–2351.

Herzog, A. G. (2000). Hormones and epilepsy. *Acta Neurológica Scandinavica*, **102**:29–31.

Hohl, A. (2017). Testosterone therapy: Injetable Androgens. En: *Testosterone*. Springer International Publishing, pp: 237-253.

Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L. and Vega-SaenzdeMiera, 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 de Maestría. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

Iqbal, R., Jain, G. K., Siraj, F. and Vohora, D. (2018). Aromatase inhibition by letrozole attenuates kainic acid-induced seizures but not neurotoxicity in mice. *Epilepsy Research*. Elsevier, **143**:60–69.

Jameson, J. L. (2017). Physiology of anterior pituitary hormones. *En: Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGrawHill Interamericana Editores, pp 6495–6508.

Jarre, G., Altwegg-Boussac, T., Williams, M. S., Studer, F., Chipaux, M., David, O., Charpier, S., Depaulis, A., Mahon, S. and Guillemain, I. (2017). Building up absence seizures in the somatosensory cortex: From network to cellular epileptogenic processes. *Cerebral Cortex*, **27**:4607–4623.

Kaminski, R. M., Marini, H., Kim, W. J. and Rogawski, M. A. (2005). Anticonvulsant activity of androsterone and etiocholanolone. *Epilepsia*, **46**:819–827.

Karabulut, S., Bayramov, R., Korkmaz, K., Filiz, A. K., Taskiran, A. S. and Ozdemir, E. (2018). Effect of the allopregnanolone and allotetrahydrodeoxycorticosteron on spike-wave discharges in the EEG of absence epilepsy rat models. *General Physiology and Biophysics*, **37**:205–211.

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

Kelvin, W. (1990). Anticonvulsant Steroids and the GAB A / Benzodiazepine Receptor-Chloride Ionophore Complex. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **14**:315–322.

Kestel, D., Acevedo, C., Medina, M. T., Mesa, T. and Rodriguez, J. (2013). Epilepsia en latinoamérica y el caribe: Informe de la Organización Panamericana de la Salud. *En: Epilepsia en Latinoamérica*, pp: 1–90.

Kight, K. E. and McCarthy, M. M. (2014). Using sex differences in the developing brain to identify nodes of influence for seizure susceptibility and epileptogenesis.

*Neurobiology of Disease*. Elsevier B.V., **72**:136–143.

Kipnis, P. A., Sullivan, B. J. and Kadam, S. D. (2019). Sex-dependent signaling pathways underlying seizure susceptibility and the role of chloride cotransporters. *Cells*, **8**:1–17.

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. and 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**:27–38.

Kovács, Z., Lakatos, R. K., Barna, J. and Dobolyi, Á. (2017). Absence epileptic activity in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rat mothers. *Brain Research*, **1657**:368–376.

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

Letts, V. A., Felix, R., Biddlecome, G. H., Arikath, J., Mahaffey, C. L., Valenzuela, A., Bartlett, F. S., Mori, Y., Campbell, K. P. and Frankel, W. N. (1998). The mouse stargazer gene encodes a neuronal Ca<sup>2+</sup> channel  $\gamma$  subunit. *Nature Genetics*, **19**:340–347.

Lévesque, M., Biagini, G. and Avoli, M. (2020). Neurosteroids and focal epileptic disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**:1–14.

Lizcano, F. (2017). Hormonas, receptor y control endócrino. En: *Fisiología endocrina*. Manual moderno, pp1–30.

Lopes-Aguiar, C., Ruggiero, R. N., Umeoka, E. H., Kandratavicius, L., Balista, P. A., Garcia-Cairasco, N., Bueno-Junior, L. S. and Leite, J. P. (2014). Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, **10**:1693–1705.

Luboshitzky, R., Herer, P., Levi, M., Shen-Orr, Z. and Lavie, P. (1999). Relationship between Rapid Eyes Movement sleep and testosterone secretion in normal men. *Journal of Andrology*, **20**:731–737.

Luetjens, C. M. and Weinbauer, G. F. (2012). Testosterone: biosynthesis, transport, metabolism and (non-genomic) actions. in *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*, 15–32.

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

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

Van Luijtelaar, G., Sitnikova, E. and Lüttjohann, A. (2011). On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. *Clinical EEG and Neuroscience*, **42**:83–97.

Van Luijtelaar, G., Tolmacheva, E. A. and Budziszewska, B. (2009). Hormones and Absence Epilepsy. in *Hormones and Gender*, 488–495.

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

Lüttjohann, A. and Van Luijtelaar, G. (2015). Dynamics of networks during absence seizure's on- and offset in rodents and man. *Frontiers in Physiology*, **6**:1–18.

Mackey, M. A., Conway, A. J. and Handelsman, D. J. (1995). Andrology: Tolerability of intramuscular injections of testosterone ester in oil vehicle. *Human Reproduction*, **10**:862–865.

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

Martínez-Rojo, E., Berumen, L. C., Alcocer, G. G. and Escobar-Cabrera, J. (2021). The Role of Androgens and Androgen Receptor in Human Bladder Cancer.

*Biomolecules*, **11**:1–16.

McCarthy, M. M. (2009). Estradiol and the developing brain. *Physiological Reviews*, **88**:91–124.

McCarthy, M. M. (2012). Sexual differentiation of brain and behavior. En: *Handbook of Neuroendocrinology*. Elsevier Inc., 393–413.

McCarthy, M. M. and Arnold, A. P. (2011). Reframing sexual differentiation of the brain. *Nature Neuroscience*, **14**:677–683.

McCarthy, M. M., Vries, G. J. de V. and Fogher, N. G. (2017). Sexual differentiation of the brain: a fresh look at mode, mechanisms, and meaning. En: *Hormones, brain and behavior*, Elsevier, pp: 570–576.

McHugh, J. C. and Delanty, N. (2008). Epidemiology and classification of epilepsy gender comparisons. En: *International Review of Neurobiology*, pp: 11–26.

Medel, J., Cortijo, L., Gasca, E., Tepetlan, P., Pérez, A. and Ramos, F. (2011). Receptor GABA<sub>A</sub>: implicaciones farmacológicas a nivel central. *Archivos de Neurociencia*, **16**:40–45.

Meeren, H., van Luijckelaar, G., Lopes da Silva, F. and Coenen, A. M. L. (2005). Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures. *Archives of Neurology*, **62**:371.

Mejías-Aponte, C. A., Jiménez-Rivera, C. A. and Segarra, A. C. (2002). Sex differences in models of temporal lobe epilepsy: Role of testosterone. *Brain Research*, **944**:210–218.

Mellon, S. H. and Griffin, L. D. (2002). Neurosteroids: biochemistry and clinical significance. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, **13**:35–43.

Miller, B. H. and Takahashi, J. S. (2014). Central circadian control of female reproductive function. *Frontiers in Endocrinology*, **4**:1–8.

Miziak, B., Chrościńska-Krawczyk, M. and Czuczwar, S. J. (2020). Neurosteroids and Seizure Activity. *Frontiers in Endocrinology*, **11**:1–15.

Mock, E. J., Norton, H. W. and Frankel, A. I. (1978). Daily rhythmicity of serum testosterone concentration in the male laboratory rat. *Endocrinology*, **103**:1111–1121.

Mohr, B. A., Guay, A. T., O'Donnell, A. B. and McKinlay, J. B. (2005). Normal, bound and nonbound testosterone levels in normally ageing men: Results from the Massachusetts Male Ageing Study. *Clinical Endocrinology*, **62**:64–73.

Möller, J. R., Durr, P. G., Quarles, R. H. and Duncan, I. D. (1997). Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the taiep rat. *Journal of Neurochemistry*, **69**:773–779.

Morgan, D. and Tsai, S. C. (2015). Sleep and the Endocrine System. *Critical Care Clinics*. Elsevier Inc, **31**:403–418.

Morgentaler, A. and Traish, A. (2018). The History of Testosterone and the Evolution of its Therapeutic Potential. *Sexual Medicine Reviews*. Elsevier Inc, **8**:1–11.

Mróz, K., Mróz, T., Wielosz, M. and Tutka, P. (2009). Effects of androsterone on convulsions in various seizure models in mice. *Pharmacological Reports*. Elsevier, **61**:564–569.

Muñoz de la Torre, L. P., Trujillo Hernández, A., Eguibar, J. R., Cortés, C. and Morales-Ledesma, L. (2022). Sex-specific hypothalamic expression of kisspeptin, gonadotropin releasing hormone, and kisspeptin receptor in progressive demyelination model. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, **123**.

Muñoz de la Torre, L. P., Eguibar, J. R., Cortés, C., Araceli, U. and Trujillo Hernández, A. (2018). Follicular development and secretion of ovarian hormones during the juvenile and adult reproductive lives of the myelin mutant taiep rat: An animal model of demyelinating diseases. *International Journal of Endocrinology*, **2018**.

Nakamura, N. H., Rosell, D. R., Akama, K. T. and McEwen, B. S. (2005). Estrogen and ovariectomy regulate mRNA and protein of glutamic acid decarboxylases and cation-chloride cotransporters in the adult rat hippocampus. *Neuroendocrinology*,

80:308–323.

Niedermeyer, E. (1996). Primary (Idiopathic) generalized epilepsy and underlying mechanisms. *Clinical Electroencephalography*, **27**:1–21.

Nieschlag, E. and Behre, H. M. (2012). Testosterone preparations for clinical use in males. En: *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. Cambridge University Press, pp: 309-335.

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

Norman, A. W., Mizwicki, M. T. and Norman, D. P. G. (2004). Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nature Reviews Drug Discovery*, **3**:27–41.

Olsen, R. W. (2018). GABAA receptor: Positive and negative allosteric modulators. *Neuropharmacology*, **136**:10–22.

Organización Mundial de la Salud (2015). *Carga mundial de epilepsia y necesidad de medidas coordinadas en los países para abordar sus consecuencias sanitarias y sociales y su conocimiento por el público*. Ciudad de México.

Organización Mundial de la Salud (2019). *Epilepsia: Un imperativo de la salud pública*. 1º Edición. Editorial: Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.

Pack, A. M., Reddy, D. S., Duncan, S. and Herzog, A. G. (2011). Neuroendocrinological aspects of epilepsy: Important issues and trends in future research. *Epilepsy and Behavior*. Elsevier Inc., **22**:94–102.

Parikh, S., Bernard, G., Leventer, R. J., van der Knaap, M. S., van Hove, J., Pizzino, A., McNeill, N. H., Helman, G., Simons, C., Schmidt, J. L., Rizzo, W. B., Patterson, M. C., Taft, R. J. and Vanderver, A. (2015). A clinical approach to the diagnosis of patients with leukodystrophies and genetic leukoencephalopathies. *Molecular Genetics and Metabolism*. Elsevier B.V., **114**:501–515.

Penfield, W. and Jasper, H. (1954). *Epilepsy and the functional Anatomy of the*

Human Brain. *Brain*, **1**:896.

Pfaff, D. W. and Joels, M. (2017). *Hormones, Brain and Behavior*. 3rd edn. .

Pinard, A., Seddik, R. and Bettler, B. (2010). GABA B receptors. Physiological functions and mechanisms of diversity. *Advances in Pharmacology*. First. Elsevier Inc., **58**:231–255.

Pisu, M. G., Mostallino, M. C., Dore, R., Mura, M. L., Maciocco, E., Russo, E., De Sarro, G. and Serra, M. (2008). Neuroactive steroids and GABAA receptor plasticity in the brain of the WAG/Rij rat, a model of absence epilepsy. *Journal of Neurochemistry*, **106**:2502–2514.

Porro, E. G. (2019). *Papel de las hormonas esteroides sexuales en crisis de ausencia en ratas mutantes de mielina taiep*. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

Posner, E. (2013). Absence Seizures in Children. *Clinical Evidence*, **12**:15.

Posner, E. (2014). *Absence Seizures in Children. Elinical Evidence Handbook*. American Family Physician.

Purves, D. (2018). Transmisión sináptica. En: *Neuroscience*. New York: Oxford University Press, pp: 127-138.

Qian, H. and Ripps, H. (2009). Focus on Molecules: The GABAC Receptor. *Experimental Eye Research*, **88**:1002–1003.

Rabie, M. O., Tag El-Din, E. S. A., Rashed, K. H., Bahnasy, W. S. and El-Serogy, H. A. (2016). A study on serum levels of testosterone and prolactin hormones in male epileptic adolescents. *Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*, **53**:79–83.

Rättyä, J., Pakarinen, A. J., Knip, M., Repo-Outakoski, M., Myllylä, V. V. and Isojärvi, J. I. T. (2001). Early hormonal changes during valproate or carbamazepine treatment: A 3-month study. *Neurology*, **57**:440–444.

Raut, D. and Bhatt, L. K. (2020). Evolving targets for anti-epileptic drug discovery.

*European Journal of Pharmacology*. Elsevier B.V., **887**:173582.

Reddy, D. S. (2003). Is there a physiological role for the neurosteroid THDOC in stress-sensitive conditions? *Trends in Pharmacological Sciences*, **24**:103–106.

Reddy, D. S. (2004a). Anticonvulsant activity of the testosterone-derived neurosteroid 3 $\alpha$ -androstenediol. *NeuroReport*, **15**:515–518.

Reddy, D. S. (2004b). Testosterone modulation of seizure susceptibility is mediated by neurosteroids 3 $\alpha$ -androstenediol and 17 $\beta$ -estradiol. *Neuroscience*, **129**:195–207.

Reddy, D. S. (2011). Role of anticonvulsant and antiepileptogenic neurosteroids in the pathophysiology and treatment of epilepsy. *Frontiers in Endocrinology*, **2**:1–11.

Reddy, D. S. (2013). Role of hormones and neurosteroids in epileptogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **7**:1–20.

Reddy, D. S. (2014). Neurosteroids and their role in sex-specific epilepsies. *Neurobiology of Disease*, **72**:198–209.

Reddy, D. S. (2017). The neuroendocrine basis of sex differences in epilepsy. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. **152**:97–104.

Reddy, D. S. and Jian, K. (2010). The testosterone-derived neurosteroid androstenediol is a positive allosteric modulator of GABAA receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **334**:1031–1041.

Reddy, D. S., Chuang, S. H., Hunn, D., Crepeau, A. Z. and Magant, R. (2018). Neuroendocrine aspects of improving sleep in epilepsy. *Epilepsy Research*, **147**:32–41.

Reddy, D. S., Thompson, W. and Calderara, G. (2021). Molecular mechanisms of sex differences in epilepsy and seizure susceptibility in chemical, genetic and acquired epileptogenesis. *Neuroscience Letters*. **750**:135753.

Rhoades, R. A. and Bell, D. R. (2018). Males reproductive system. En: *Fisiología Médica*. Wolters Kluwer, pp: 1432-1467.

Romaniello, R., Arrigoni, F., Bassi, M. T. and Borgatti, R. (2015). Mutations in  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin encoding genes: Implications in brain malformations. *Brain and Development*. The Japanese Society of Child Neurology, **37**:273–280.

Romaniello, R., Zucca, C., Arrigoni, F., Bonanni, P., Panzeri, E., Bassi, M. T. and Borgatti, R. (2019). Epilepsy in tubulinopathy: Personal series and literature review. *Cells*, **8**:4–7.

Romaniello, R., Arrigoni, F., Fry, A. E., Bassi, M. T., Rees, M. I., Borgatti, R., Pilz, D. T. and Cushion, T. D. (2018). Tubulin genes and malformations of cortical development. *European Journal of Medical Genetics*. Elsevier, **61**:744–754.

Roselli, C. E., Horton, L. E. and Resko, J. A. (1985). Distribution and regulation of aromatase activity in the hypothalamus and limbic system. *Endocrinology*, **117**:2471–2477.

Russo, E., Citraro, R., Scicchitano, F., Urzino, A., Marra, R., Rispoli, V. and 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.

Sarkey, S., Azcoitia, I., García-Segura, L. M., García-Ovejero, D. and DonCarlos, L. L. (2008). Classical androgen receptors in non-classical sites in the brain. *Hormones and Behavior*, **55**:753–764.

Schroeder, G. M., Diehl, B., Chowdhury, F. A., Duncan, J. S., Tisi, J. De, Trevelyan, A. J., Forsyth, R., Jackson, A., Taylor, P. N. and Wang, Y. (2020). Seizure pathways change on circadian and slower timescales in individual patients with focal epilepsy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **117**:11.

Schroeder, G. M., Chowdhury, F. A., Cook, M. J., Diehl, B., Duncan, J. S., Karoly, P. J., Taylor, P. N. and Wang, Y. (2022). Multiple mechanisms shape the relationship between pathway and duration of focal seizures. *Brain Communications*, **4**:1–16.

Schwartz-Giblin, S., Korotzer, A. and Pfaff, D. W. (1989). Steroid hormone effects

on picrotoxin-induced seizures in female and male rats. *Brain Research*, **476**:240–247.

Sigel, E. and Ernst, M. (2018). The Benzodiazepine Binding Sites of GABA A Receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, **39**:1–13.

Sigel, E. and Steinmann, M. E. (2012). Structure , Function , and Modulation of GABA A. *The Journal of Biological Chemistry*, **287**:40224–40231.

Simons, C., Wolf, N. I., McNeil, N., Caldovic, L., Devaney, J. M., Takanoashi, A., Crawford, J., Ru, K., Grimmond, S. M., Miller, D., Tonduti, D., Schmidt, J. L., Chudnow, R. S., Van Coster, R., Lagae, L., Kisler, J., Sperner, J., Van Der Knaap, M. S., Schiffmann, R., Taft, R. J. and Vanderver, A. (2013). A de novo mutation in the  $\beta$ -tubulin gene TUBB4A results in the leukoencephalopathy hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum. *American Journal of Human Genetics*, **92**:767–773.

Smith, K. A. and Bierkamper, G. G. (1990). Paradoxical role of GABA in a chronic model of petit mal (absence)-like epilepsy in the rat. *European Journal of Pharmacology*, **176**:45–55.

Smith, M. D., Jones, L. S. and Wilson, M. A. (2002). Sex differences in hippocampal slice excitability: Role of testosterone. *Neuroscience*, **109**:517–530.

Spool, J. A., Bergan, J. F. and Ramage-healey, L. (2022). Frontiers in Neuroendocrinology A neural circuit perspective on brain aromatase. *Frontiers in Neuroendocrinology*. Elsevier Inc., **65**:1–16.

Svalheim, S., Sveberg, L., Mochol, M. and Taubøll, E. (2015a). Interactions between antiepileptic drugs and hormones. *Seizure*. BEA Trading Ltd, **28**:12–17.

Svalheim, S., Sveberg, L., Mochol, M. and Taubøll, E. (2015b). Interactions between antiepileptic drugs and hormones. *Seizure*. BEA Trading Ltd, **28**:12–17.

Tabatadze, N., Huang, G., May, R. M., Jain, A. and Woolley, C. S. (2015). Sex differences in molecular signaling at inhibitory synapses in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, **35**:11252–11265.

Targas Yacubian, E. M., Contreras-Caicedo, G. and Rios-Pohl, L. (2014). *Farmacológico de las Epilepsias Farmacológico de las Epilepsias*.

Teyler, T. J., Vardaris, R. M., Lewis, D. and Rawitch, A. B. (1980). Gonadal Steroids: Effects on Excitability of Hippocampal Pyramidal Cells. *Science*, **209**:1017–1019.

Thomas, J. and McLean, J. H. (1991). Castration alters susceptibility of male rats to specific seizures. *Physiology and Behavior*, **49**:1177–1179.

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

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. and Bertini, E. (2016). TUBB4A-related hypomyelinating leukodystrophy: New insights from a series of 12 patients. *European Journal of Paediatric Neurology*, **20**:323–330.

Tutka, P., Mróz, K., Mróz, T., Buszewicz, G., Aebisher, D., Bartusik-Aebisher, D., Kołodziejczyk, P. and Łuszczki, J. J. (2019). Effects of androsterone on the protective action of various antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Psychoneuroendocrinology*, **101**:27–34.

Valdés-Galván, R. E., González Calderón, G. and Castro Martínez, E. (2019). Epidemiología del descontrol de la epilepsia en un servicio de urgencias neurológicas. *Revista de Neurología*, **68**:321.

Vergens, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Depaulis, A., Rumbach, L. and Warter, J. M. (1984). Enhancement of spike and wave discharges by GABA-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. and Warter, J. M. (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: A model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neuroscience Letters*, **33**:97–101.

Wang, M. (2011). Neurosteroids and GABA-A receptor function. *Frontiers in*

*Endocrinology*, **2**:1–23.

Yildiz, O. K., Yildiz, C., Durmus, N., Gulturk, S., Benek, S. and Cetin, A. (2011). Ovariectomy enhances spike-wave discharges in WAG/Rij rats. *Neurology Psychiatry and Brain Research*, **17**:67–70.

## Anexo

### Participación en congresos nacionales

1.- Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas LXV/ Congreso Internacional 2022 de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas Puebla, México, 7- octubre- 2022. **“Role of testosterone in spike-wave discharges seizures in *taiep* rats”**. Castillo-Lazcano Rubén, Cortés Sánchez Ma. Del Carmen, Trujillo Angélica, Eguibar Cuenca José R.

  
Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A. C.

**Mesa Directiva 2021-2023**  
Presidente  
Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Vicepresidente  
Dra. Margarita Martínez Gómez

Secretario  
Dr. Francisco Castelán

Tesorero  
Dr. José Everardo Avelino Cruz

  
Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas

Presidente  
Dr. Luis Sobrevía

Secretario General  
Dr. Ernesto Alejandro Aiello

**LXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas**

**Congreso Internacional 2022 de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas**

Certificate of Presentation  
to

**Castillo Lazcano, Rubén; Cortés, Carmen, Trujillo, Angelica; Eguibar, José R.**

By the Organizing Committee of the LXV National Congress of the Mexican Society of Physiological Sciences (SMCF) and the 2022 Meeting of the Latin American Association of Physiological Sciences (ALACF)


for the presentation entitled  
Role of testosterone in spike-wave discharges seizures in *taiep* rats

Puebla, Pue., (Mexico), October 7, 2022


  
**Dra. Carmen Cortés**  
SMCF  
President

  
**Dr. Luis Sobrevía**  
ALACF  
President

2.- Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales II Tlaxcala, México del 28-sep al 1 de oct del 2022. **“Papel de la testosterona en las crisis de ausencia de la rata *taiep*”**. Castillo-Lazcano Rubén, Cortés Sánchez Ma. Del Carmen, Trujillo Angélica, Eguibar Cuenca José R.




**La Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales, A.C.**  
Otorga la presente **CONSTANCIA** a:




**Rubén Castillo-Lazcano, Carmén Cortés, Angélica Trujillo, José R. Eguibar, Víctor H. Hernández y Valeria Piazza**


Por presentar el póster:  
**“Papel de la testosterona en las crisis de ausencia de la rata *taiep*”**




Presentado durante el 2<sup>do</sup> Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales




Llevado a cabo en Tlaxcala, Tlax. del 28 septiembre al 1 de octubre 2022




Dra. Yolanda Cruz  
Presidenta, Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales



Dr. Álvaro Muñoz  
Vicepresidente, Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales



Dra. María Elena Hernández  
Secretaria, Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales



Dr. Cesar F. Pastelín  
Tesorero, Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales

## Participación en congreso internacional

1.- Neuroscience 2022, EUA 12-16-nov online. **“Role of testosterone in spike-wake discharges seizures in *taiep* rats”**. Castillo-Lazcano Rubén, Cortés Sánchez Ma. Del Carmen, Trujillo Angélica, Eguibar Cuenca José R.

*Neuroscience 2022  
November 12-16, 2022*

Please let this serve to certify that

***Ruben Castillo***

has attended Neuroscience 2022 online.

The Society for Neuroscience (SfN) is a nonprofit membership organization of basic scientists and physicians who study the brain and nervous system. The Society's primary goal is to promote the exchange of information among researchers. For this purpose, SfN holds a prestigious annual meeting, attended by scientists and researchers from around the globe. It is considered the most important annual forum for the neuroscience research community, offering attendees the opportunity to learn about the latest advances in brain research.

Sincerely,



Kyle Hayden, CMP  
Director, Meeting Programs and Attendee Services  
Society for Neuroscience

## Actividades de divulgación

1.- Puertas abiertas 2022, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 3-dic. **El mundo de la epilepsia**. Castillo-Lazcano Rubén, Cortés Sánchez Ma. Del Carmen, Trujillo Angélica, Eguibar Cuenca José R.



**BUAP**

### La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

a través de la Coordinación General de Atención a los Universitarios y de la  
Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado  
otorga el presente


## RECONOCIMIENTO

### A Rubén Castillo Lazcano

Por su participación entusiasta y comprometida durante el magno evento **“Puertas Abiertas BUAP 2022”**, llevado a cabo el 3 de diciembre de 2022 como parte de las acciones del Plan de Desarrollo Institucional 2021 - 2025.

**“Pensar bien para vivir mejor”**

H. Puebla de Z., a 3 de diciembre de 2022



Dr. Ygnacio Martínez Laguna  
Vicerrector de Investigación y  
Estudios de Posgrado