



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTA DE MEDICINA



LICENCIATURA EN BIOMEDICINA
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

LABORATORIO DE NEUROFISIOLOGÍA DE LA CONDUCTA Y CONTROL MOTOR

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

Tesis que para obtener el grado de
Licenciada en Biomedicina

Presenta

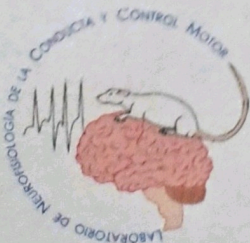
Orivel Europa Yáñez Lara

Directora

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Co- director

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca



Puebla, Pue. Junio, 2024.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (VIEP-BUAP 2021-2022), al Cuerpo Académico de Neuroendocrinología 2023 (BUAP-CA-288) por proporcionar los recursos financieros para la realización de esta tesis.

Agradezco al proyecto PRONACES-CONACYT No. 194171 por financiar parcialmente este proyecto.

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por otorgar el apoyo como ayudante de investigador nivel III José Ramón Eguibar Cuencia, con No. CVU 1273239.

Agradezco al Laboratorio de Fisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología por permitirme realizar los trabajos de experimentación de esta tesis.

Agradezco a la Doctora Ma. del Carmen Cortés Sánchez y al Doctor José Ramón Eguibar Cuenca por permitirme realizar este proyecto en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor en el Instituto de Fisiología, por su apoyo, y acompañamiento durante este proceso, por los conocimientos y experiencias que me compartieron. A la Maestra Araceli Ugarte por su paciencia y asesoramiento en cada paso de este proyecto.

Mi más profundo agradecimiento es para mi familia, a mis papás Ori y Sergio por su amor incondicional, por apoyarme tanto emocional, espiritual y económicamente durante todos estos años de mi formación académica, siempre han sido mis guías, me han impulsado a mejorar cada aspecto de mi vida personal y académica con su ejemplo, a alcanzar mis metas sin importar las adversidades y terminar esta etapa de mi vida con éxito; a mi hermanita Ale que día con día con su cariño y apoyo me dio ánimos para seguir adelante, este logro no hubiera sido posible sin ustedes tres, los amo con todo mi corazón.

Así mismo quiero expresar mi gratitud a todas las personas que estuvieron a mi lado apoyándome durante estos años, a Ivan, gracias mi amor por acompañarme, escucharme y apoyarme cada vez que lo necesitaba, por la paciencia y el amor con el que siempre me has aconsejado. A mis amigos Doriani, Kelly y Yovani, por estar en los momentos de alegría, por las risas y su compañía en los buenos y malos momentos porque sin ustedes este camino no habría sido tan fácil de sobrellevar; Karen que fue mi mejor consejera y soporte durante toda la carrera y la mejor amiga que la universidad pudo dejarme.

Finalmente quiero expresar mi agradecimiento a los mejores compañeros y amigos que conocí en el laboratorio, a Salvador, quien fue mi Maestro no solo en lo académico y experimental, sino también en el ámbito personal, a Rubén, Adriela, Juan Carlos, Norman, Adri, Lili, América, Alejandro, Karla, Diego, Hallel, Eli, por las risas, el apoyo y soporte que me brindaron en todo momento durante mi estancia en el laboratorio, los quiero y les estaré agradecida por siempre por mostrarme que el camino puede ser difícil pero en compañía de buenas amistades siempre será divertido hacer lo que te gusta.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.	6
1.1 Epilepsia.	6
1.2 Epidemiología de la epilepsia.....	6
1.3 Afectaciones sociales y económicas de la epilepsia.	6
1.4 Clasificación de la epilepsia.....	7
1.4.1 Crisis de ausencia.....	8
1.4.2 Fisiopatología de las crisis de ausencia.	9
1.5 Sistema GABAérgico.....	10
1.5.1 Participación del sistema GABAérgico en las crisis de ausencia.	13
1.6 Las Hormonas: clasificación y su función.	14
1.6.1 Las hormonas esteroides.....	15
1.6.2 Hormonas esteroides sexuales.	17
1.6.3 Rol de las hormonas en la diferenciación sexual cerebral.	17
1.7 Modelos animales de crisis de ausencia.	19
1.7.1 Modelos farmacológicos para el estudio de las crisis de ausencia.....	20
1.7.2 Modelos genéticos para el estudio de las crisis de ausencia.	20
1.7.3 La rata con Epilepsia de Ausencia Genética de Strasburgo (GAERS).....	21
1.7.4 La rata Wistar Albino Glaxo de Rijswijk (WAG/Rij).....	22
1.7.5 La rata <i>taiep</i> como modelo de crisis de ausencia.....	23
2. ANTECEDENTES.	27
2.1 ANTECEDENTES GENERALES.	27
2.1.1 Participación de las hormonas sexuales en la epilepsia.	27
2.1.2 Testosterona y su metabolismo.....	28
2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	31
2.2.1 Rol de la testosterona en las crisis de ausencia.	31
3. JUSTIFICACIÓN.	33

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	34
5. HIPÓTESIS.....	35
6. OBJETIVOS.....	35
6.1 OBJETIVO GENERAL.....	35
6.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	35
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
7.1 Sujetos.....	36
7.2 Orquiectomía.....	36
7.3 Cirugía estereotáxica.....	36
7.4 Habitación pre-registro.....	38
7.5 Registro electroencefalográfico.....	38
7.6 Criterios de selección de los sujetos.....	39
Criterios de inclusión.....	39
Criterios de exclusión.....	39
Criterios de eliminación.....	39
7.7 Criterios de selección de descargas espiga-onda.....	40
7.8 Recursos financieros.....	40
8. RESULTADOS.....	41
8.1 Efectos de la administración de propionato de testosterona en la frecuencia de las descargas espiga-onda.....	41
8.2 Efectos de la administración de propionato de testosterona sobre la duración de las descargas espiga-onda.....	42
8.3 Efectos de la administración de propionato de testosterona sobre la latencia.....	43
9. DISCUSIÓN.....	44
10. CONCLUSIONES.....	48
11. PERSPECTIVAS.....	48
12. REFERENCIAS.....	49

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Epilepsia.

La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE, de sus siglas en inglés por International League Against Epilepsy), define a la epilepsia como la ocurrencia transitoria de síntomas o signos causados por una actividad neuronal cerebral excesiva, sincrónica, y anormal que conlleva a padecer crisis epilépticas no provocadas (ILAE, 1997). Una crisis epiléptica es una manifestación clínica, ya sea de tipo motor, sensitiva, sensorial, psíquica, entre otras; estos episodios se caracterizan por ser bruscos, breves, paroxísticos y autolimitados (Gilbert y cols., 2010). Una convulsión en una persona no es equivalente a padecer epilepsia, ya que hasta el 10% de la población mundial es susceptible a tener una convulsión a lo largo de su vida (Organización Mundial de la Salud, 2022).

1.2 Epidemiología de la epilepsia.

La epilepsia es uno de los trastornos neurológicos más comunes en los humanos a nivel mundial, de acuerdo con el análisis de la carga de epilepsia realizado por el estudio de la carga global de enfermedades en 2019, reportó que alrededor de 45.9 millones de personas en todo el mundo tienen epilepsia activa (Noriega y cols., 2020). Aproximadamente el 70% de las personas con epilepsia tienen acceso y responden de manera positiva a un tratamiento adecuado, además la epilepsia representa el 0.5% de la carga de morbilidad mundial (OMS, 2022). En México se estima una prevalencia de entre 10.8 a 20 casos por cada mil habitantes (Valdés y cols., 2019).

1.3 Afectaciones sociales y económicas de la epilepsia.

A nivel social se ha generado un problema de discriminación hacia las personas con algún tipo de epilepsia, derivado del estigma social y desconocimiento que se tiene sobre dicha enfermedad neurológica, el impacto que tiene la sociedad en la vida de las personas con epilepsia puede ser mayor que la propia enfermedad (OMS, 2022).

En cuanto a lo económico, los costos directos que implica el tratamiento de la enfermedad y la pérdida de la productividad de la persona que la padece suponen una carga económica considerable para las familias. Un estudio realizado en 2006 demostró que en México los costos anuales directos de la atención de la epilepsia en pacientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) por persona equivalen a 2,646 dólares americanos, tomando en cuenta los pacientes que atendieron durante ese año (García-Contreras, y cols., 2006).

1.4 Clasificación de la epilepsia.

La Liga Internacional Contra la Epilepsia es un organismo que se ha encargado de establecer una clasificación normativa de la epilepsia, en el año 2017, propuso una nueva clasificación, en la que se divide a la epilepsia en tres niveles de acuerdo al tipo de crisis, tipo de epilepsia, y en el último nivel de acuerdo a los síndromes epilépticos (véase figura 1). Adicionalmente se considera la etiología para la epilepsia, pudiendo ser estructural, genética, infecciosa, metabólica, inmunitaria o desconocida (Hirsch y cols., 2017; Scheffer y cols., 2019).

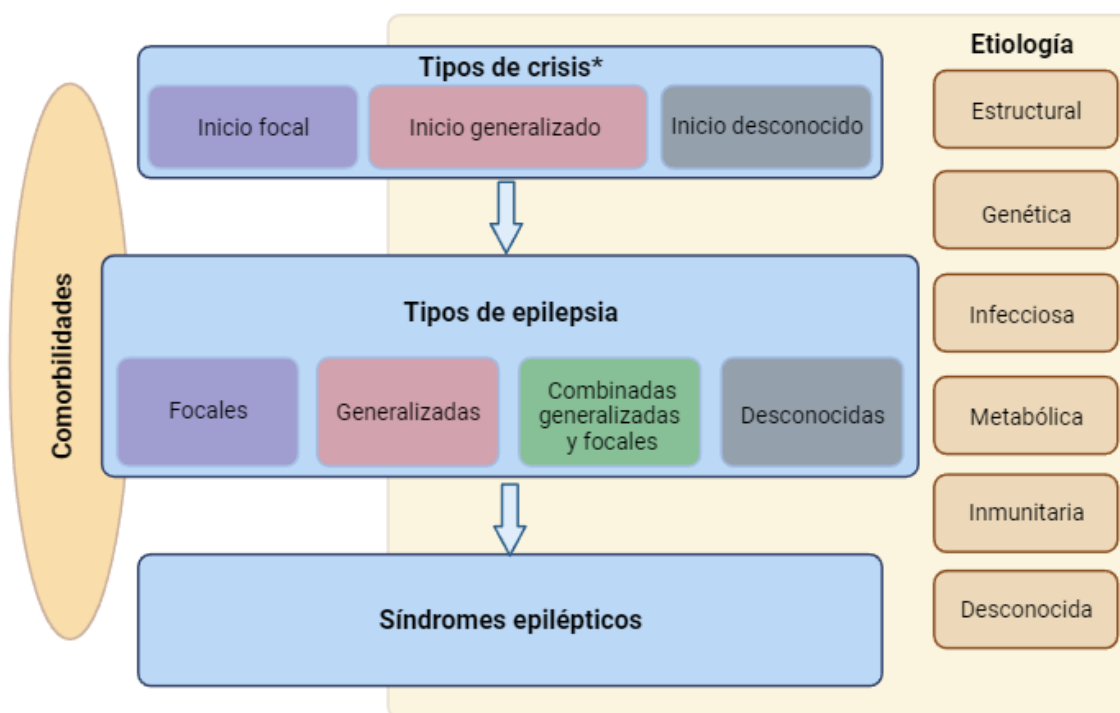


Figura 1. Clasificación de la epilepsia en base a lo propuesto por la Liga Internacional contra la Epilepsia. Se proponen tres niveles para el diagnóstico de la epilepsia, por 1. Tipo de crisis; 2. Tipos de epilepsia; 3. Síndromes epilépticos. *Indica el inicio de las crisis. (Modificado de Fisher y cols., 2017).

1.4.1 Crisis de ausencia.

Las crisis de generalizadas se caracterizan por distribuirse de manera bilateral a nivel cerebral y se clasifican a su vez en motoras y no motoras; las primeras involucran el incremento o disminución del movimiento, las segundas son las de ausencia que pueden ser ausencias típicas, atípicas, mioclónicas o con mioclonía palpebral (Fisher y cols., 2017).

La primera descripción de las crisis de ausencia se le atribuye a Francois Poupert en 1705, quien mostró el caso de una niña con epilepsia que al inicio de las crisis se mantenía inmóvil sentada sin hablar, con pérdida de la conciencia y manteniendo sus ojos abiertos; posterior a este episodio ella no recordaba haber caído en este estado incluso si estaban platicando se interrumpía la conversación mientras ocurría la crisis de ausencia, para posteriormente retomar esta en el mismo punto en el que se había detenido, sin darse cuenta del periodo de la interrupción (Brigo y cols., 2018). Fue hasta el año 1931, que el Dr. Hans Berger, el inventor del electroencefalograma, quien llevó a cabo el primer registro electroencefalográfico de una crisis de ausencia en una mujer de 18 años de edad que presentaba crisis tónico-clónicas y también crisis de ausencia (Brigo y cols., 2018).

Las crisis de ausencia típicas se caracterizan por ser de inicio repentino, se produce un arresto conductual, es decir, ocurre una interrupción de las actividades en curso, mirada en blanco con posible desviación de los ojos hacia arriba y la persona no responde cuando se le habla, esto debido a la pérdida de la conciencia, la duración es de pocos segundos con rápida recuperación, pueden además verse acompañadas de algunos síntomas motores como son las mioclonías, las fasciculaciones o los signos vegetativos dependiendo si son simples o complejas (Williams y cols., 2004). En el trazo electroencefalográfico se observan de forma generalizada descargas espiga-onda (DEOs) con una frecuencia principal de 2.5 a 4 Hz y termino abrupto, sin un periodo postictal (véase figura 2).

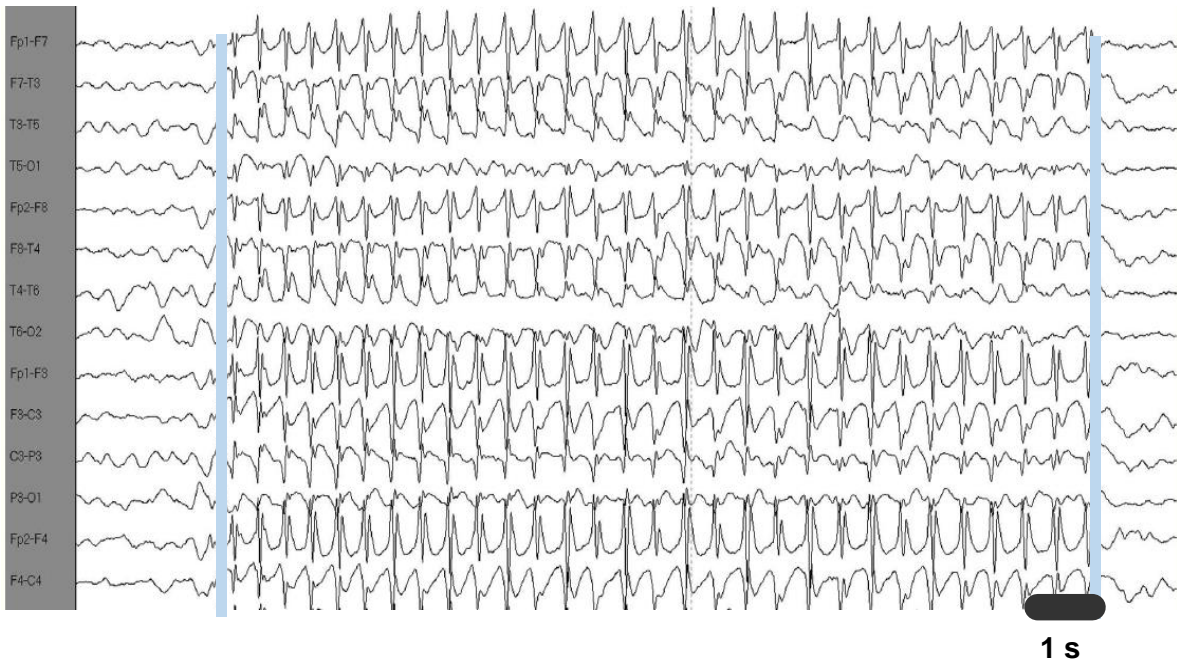


Figura 2. Registro electroencefalográfico de un paciente de ocho años con crisis de ausencia. Note que entre las líneas azules los complejos espiga-onda, con inicio y término abruptos, y una duración aproximada de 12 segundos, característica presente en el EEG de una persona con crisis de ausencia (Modificado de Travé y Yoldi, 2004).

1.4.2 Fisiopatología de las crisis de ausencia.

El núcleo involucrado en el inicio de las crisis de ausencia aún no está bien definido, algunos estudios han mostrado posibles sitios de inicio y se han propuesto distintas teorías, la primera de ellas es la “centroencefálica” propuesta por los Doctores Penfield y Jasper, quienes en 1957 propusieron que el origen de las DEOs es subcortical, en base a que mostraron que al estimular eléctricamente la corteza cerebral no se generaban las DEOs (Meeren y cols., 2005; véase figura 3A). En 1968 fue propuesta la teoría “corticoreticular” por el Dr. Gloor proponiendo que la génesis de las DEO se debe a la corteza y al tronco encefálico, y al mismo tiempo el tálamo, que es la estructura que comanda el ritmo de las DEO, sin que sea indispensable para el inicio de las descargas pero si para su mantenimiento, (véase figura 3B; Meeren y cols., 2005).

Recientemente y con mayor aceptación, se ha estudiado en otro modelo genético, *Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS)* el inicio de las crisis de ausencia; por lo cual se determinó que la región de barril de la corteza somatosensorial primaria, a nivel de las capas cinco y seis en las neuronas piramidales gigantes excitatorias determinan el origen de la actividad paroxística (Studer y cols., 2018); y posteriormente la actividad anormal se propaga hacia el tálamo, y al circuito tálamo-cortical (véase figura 3C; Jarre y cols., 2017).

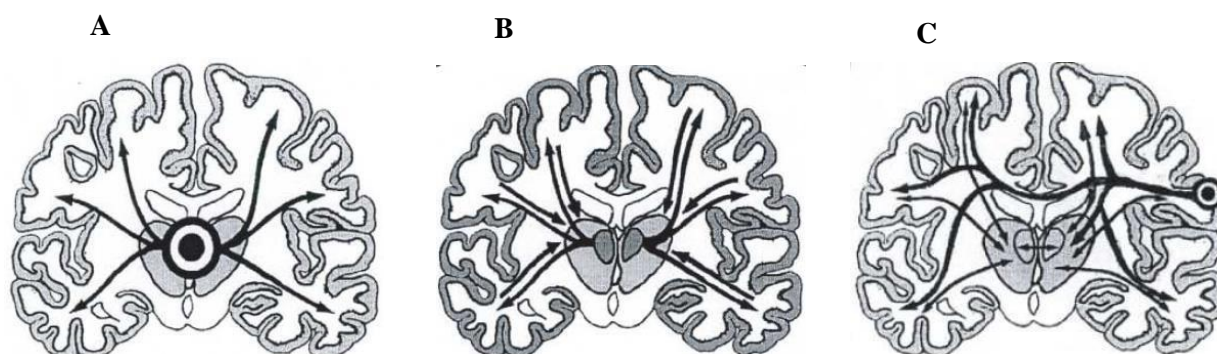


Figura 3. Teorías propuestas para el inicio de las crisis de ausencia. A) Teoría centroencefálica propuesta por Penfield y Jasper; B) Teoría corticorreticular de Gloor; C) Teoría cortico-focal de Meeren en la que el foco de la crisis de ausencia es en la zona somatosensorial a nivel de la región perioral (Modificado de Meeren y cols., 2005).

1.5 Sistema GABAérgico.

El ácido gamma-amino butírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC) en los mamíferos (Purves, 2020). El neurotransmisor GABA es sintetizado a través de la descarboxilación del ácido glutámico por la enzima glutamato descarboxilasa (GAD). Una vez sintetizado es transportado mediante vesículas hacia las terminales sinápticas, donde es liberado hacia el espacio extracelular para unirse a los receptores postsinápticos. Después de su síntesis, liberación y unión a receptores, el GABA es recapturado a través de transportadores de GABA denominados GAT-1 y GAT-3, que se encuentran expresados en células gliales, para ser reutilizados por la neurona presináptica. El catabolismo del GABA, a través de la enzima GABA transaminasa, generando ácido

glutámico que puede reingresar a la neurona presináptica para producir más GABA y genera también semialdehído succínico que puede ser metabolizado y convertido a ácido gamma hidroxibutírico que se encarga de la regulación de los receptores GABA_B o puede ser deshidrogenado a succinato que entrará al ciclo de Krebs (véase figura 4; Purves, 2020).

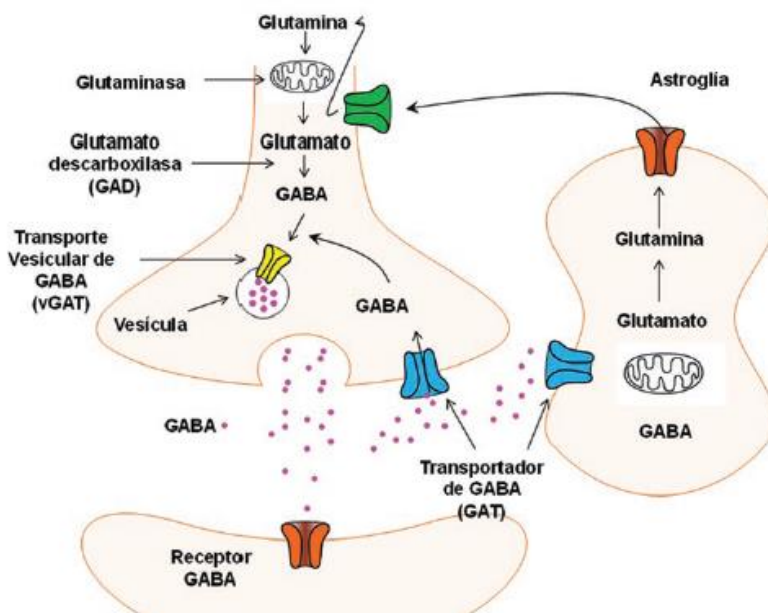


Figura 4. Mecanismo de síntesis, liberación y recaptura del neurotransmisor inhibitorio GABA. Note que la síntesis de GABA a partir de su precursor el glutamato a través de la glutamato descarboxilasa, es transportado mediante vesículas que ayudan a su liberación hacia el espacio sináptico, interactuando con sus receptores, una vez que cumple su función es recapturado para su reutilización o su degradado. (Tomado de Purves, 2020).

La acción inhibitoria de GABA en el sistema nervioso central es modulada a través de su unión a sus receptores, puede activar tres tipos de receptores denominados GABA_A, GABA_B y GABA_C, independientemente del tipo de receptor modulan un influjo de aniones cloro (Cl⁻) y consecuentemente la hiperpolarización de la célula (Valverde, 2021).

El receptor GABA_A, es el que se encuentra de forma más abundante en el SNC, su estructura es pentamérica, formado por cinco subunidades distintas que se denominan α , β , γ , δ o ρ , es un receptor de tipo ionotrópico; en su estado conformacional abierto es permeable al cloro, permitiendo el influjo de estos iones al interior de la membrana lo que conlleva a la hiperpolarización de la célula, produciendo la actividad inhibitoria del sistema. La

sensibilidad y actividad ya sea de activación o bloqueo de este receptor es mediada por fármacos con diferente afinidad a sus subunidades, como son las benzodiazepinas, los neuroesteroides, los barbitúricos y algunos tipos de anestésicos; esta modulación es conocida como regulación alostérica (Guit, y cols., 2021; Cedillo y cols., 2018; véase figura 5).

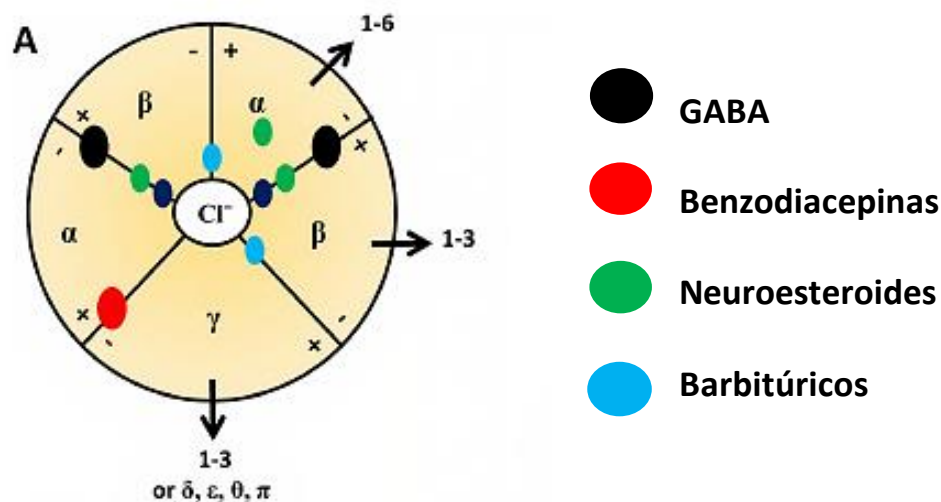


Figura 5. Representación esquemática de la estructura del receptor GABA_A. Se muestra la distribución de las subunidades que conforman al receptor GABA_A, así como los diferentes sitios de unión para el GABA, las benzodiazepinas, los neuroesteroides y los barbitúricos; así como el sitio que permite el flujo de iones Cl⁻.

El receptor GABA_B: se ha mostrado que estos receptores se encuentran en la membrana presináptica y postsináptica, funcionando así como un heterorreceptor o autorreceptor (Filip y cols., 2008), es un receptor de tipo metabotrópico, es decir, acoplado a proteína G de tipo inhibitorio (Gi), está asociado a canales rectificadores de potasio (K^{*}) que es permeado al exterior de la célula, por lo que su acción produce una inhibición de tipo tónico. Este receptor se encuentra distribuido en todo el SNC, principalmente en núcleos talámicos, núcleo amigdalino, en cerebelo y en la corteza cerebral (Cedillo, y cols., 2018).

El receptor GABA_C: Es un receptor de tipo ionotrópico, al igual que el receptor GABA_A su estructura es pentamérica, la diferencia es que las subunidades de este receptor son iguales, pueden ser únicamente ρ1, ρ2 o ρ3. Su distribución es la menos frecuente a nivel de SNC, su expresión principal es en la retina de los vertebrados (Qian y Ripps, 2009). Contrario a los receptores GABA_A, estos no son sensibles a fármacos antiepilépticos (Kaila, y cols., 2014).

1.5.1 Participación del sistema GABAérgico en las crisis de ausencia.

Los receptores GABA son los más utilizados como diana para el tratamiento de desórdenes neurológicos tales como el insomnio, la ansiedad, la epilepsia, entre otros (Korpi y cols., 2006; Wang y cols., 2011). El neurotransmisor GABA ha sido propuesto como el principal neurotransmisor implicado en el inicio y mantenimiento de las DEOs en la epilepsia de tipo crisis de ausencia (Rodríguez y cols., 2006; Avoli y cols., 2012).

En los últimos tres años, se ha descrito un modelo simple de tres compartimientos que explica la generación de las DEOs, en el cual se propone que el disparo inicial de las DEOs proviene de un foco hiperexcitable en la región perioral de la corteza somatosensorial S1, que funge como el compartimiento 1, específicamente en neuronas glutamatérgicas cortico-talámicas (CT) de las capas 5 y 6. Estas neuronas CT proveen una excitación rítmica a neuronas de relevo glutamatérgicas tálamo-corticales en el tálamo ventrobasal (compartimiento 2), así como vías colaterales a neuronas GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo (compartimiento 3); estas últimas envían proyecciones inhibitorias a las neuronas tálamo-corticales, induciendo una leve hiperpolarización en estas neuronas, y promoviendo el disparo inicial que constituye la actividad rítmica excitatoria característica de las DEOs (Gallagher, 2020; McCafferty, y cols., 2021), (véase figura 6).

Aunado a esta evidencia, estudios *in vitro* en neuronas tálamo-corticales del tálamo ventrobasal han demostrado que existe un incremento en la actividad tónica de los receptores GABA_A al comparar diferentes modelos genéticos de crisis de ausencia respecto de lo obtenido en animales control (Cope y cols., 2009). Esta inhibición tónica implica una hiperpolarización persistente de la membrana celular a nivel de las neuronas tálamo-corticales, lo que induce la interrupción de la percepción de estímulos sensoriales externos, de ahí que se interrumpa la actividad conductual del individuo al presentar una crisis de ausencia (Crunelli y cols., 2011).

Dado esta evidencia, es claro que tanto el neurotransmisor GABA, como sus receptores, principalmente el receptor GABA_A, se encuentran implicados en el inicio y mantenimiento de las DEOs, el estudio de este neurotransmisor y su receptor podrían ayudar a dilucidar el mecanismo fisiopatológico que conlleva a las crisis de ausencia.

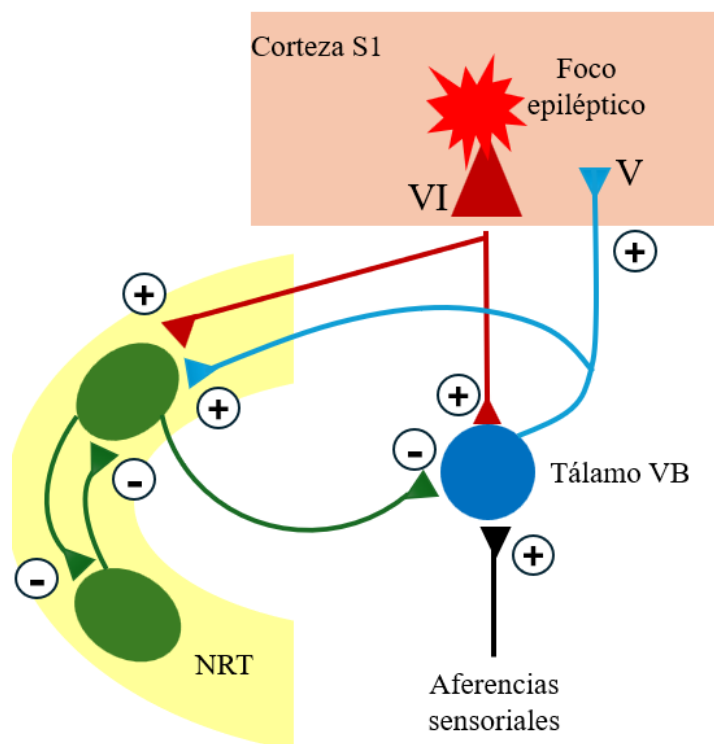


Figura 6. Modelo de tres compartimientos de la generación de las DEO. Las flechas rojas simbolizan las proyecciones excitatorias de las neuronas en S1 (compartimiento 1) hacia las neuronas de relevo del tálamo ventrobasal (VB, compartimiento 2) y hacia el núcleo reticular del tálamo (NRT, compartimiento 3). La actividad excitatoria de las neuronas de S1 hacia el tálamo VB y la actividad inhibitoria dada por el NRT hacia el tálamo VB, ocasionan que las células a este nivel entren en una actividad sincronizada u oscilatoria, dando paso a las DEO, (Modificado de Lüttjohann y cols., 2022).

1.6 Las Hormonas: clasificación y su función.

En el año 1902 Ernest Starling y William Bayliss, fueron los primeros en utilizar el término “*hormona*” derivado de una raíz griega que significa “*excitar/despertar*”, definiéndolas como aquellas sustancias que se producen en glándulas específicas cuyos productos son segregados hacia el torrente sanguíneo para ser transportados hacia diversos órganos blanco donde se establecen los mecanismos de reconocimiento y se activan procesos fisiológicos

específicos (Cardellá y Hernández, 2014). Actualmente se sabe que las hormonas son sustancias orgánicas producidas por glándulas endócrinas que se secretan a la circulación sanguínea y ejercen su acción como mediadores químicos en sus diferentes tejidos diana. (Zárate y Saucedo, 2005). De acuerdo con su estructura química, las hormonas se clasifican en tres grupos principales: hormonas esteroideas, aminas o hormonas proteicas o polipeptídicas (véase figura 7; Brandan y cols., 2008).

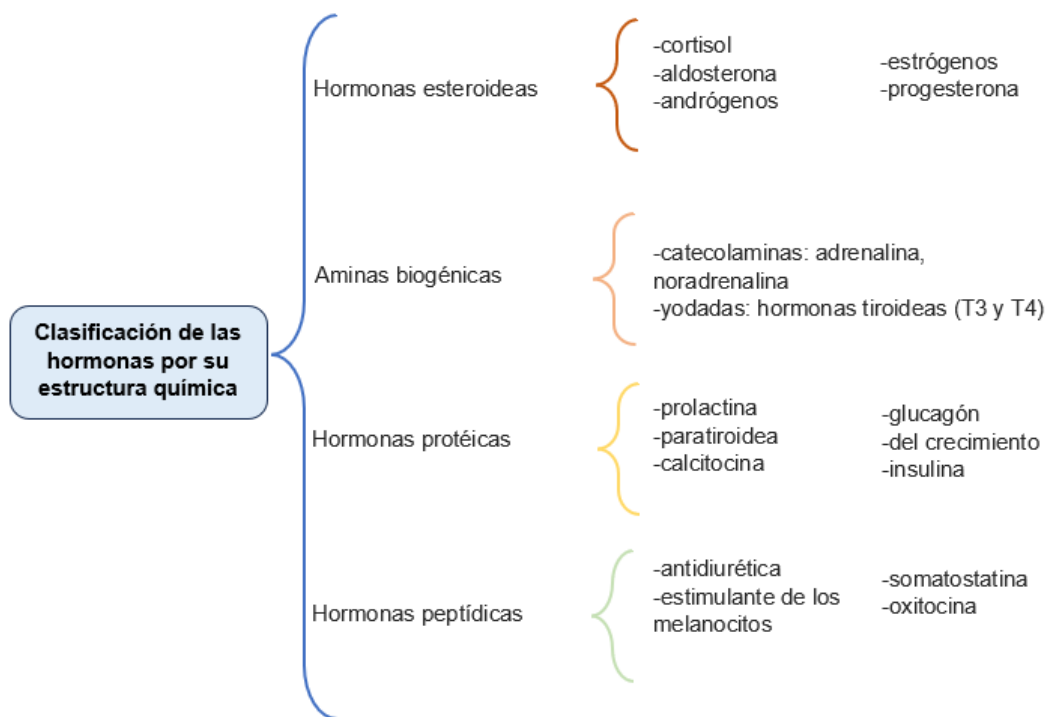


Figura 7. Clasificación de las hormonas. Según su estructura química las hormonas pueden clasificarse en esteroideas, biogénicas, protéicas o peptídicas, se mencionan algunos ejemplos de cada grupo.

1.6.1 Las hormonas esteroides.

Existen tres órganos endócrinos que se especializan en la producción de las hormonas esteroides: los ovarios que sintetizan estrógenos y progestágenos; los testículos que sintetizan andrógenos; y la corteza de las glándulas suprarrenales que llevan a cabo la síntesis de mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos (Holst y cols., 2004). Es relevante que durante la gestación la placenta se convierte en una fuente adicional de síntesis de esteroides, principalmente de progesterona y de lactógeno placentario (Gerald y Eugene, 1995). Todas

las hormonas esteroideas, tanto los corticoesteroides como las hormonas sexuales son sintetizadas a partir del colesterol; esta síntesis implica el acortamiento de la cadena hidrocarbonada del colesterol y la hidroxilación del núcleo esteroideo; el primer esteroide de la vía biosintética es la pregnenolona que funge como precursora de las demás moléculas esteroideas. La enzima que cataliza la reacción completa es la desmolasa P450_{scc}, que es parte del sistema del citocromo P450 de la membrana mitocondrial interna (Rouiller y cols., 1990). Los productos finales de esta serie de reacciones dependen de las enzimas que se estén expresando en los tejidos donde se lleva a cabo su biosíntesis (López y cols., 2013), llevando así a la formación de las cuatro principales clases de esteroideas: los glucocorticoides, los mineralocorticoides, los andrógenos y los estrógenos, (véase figura 8).

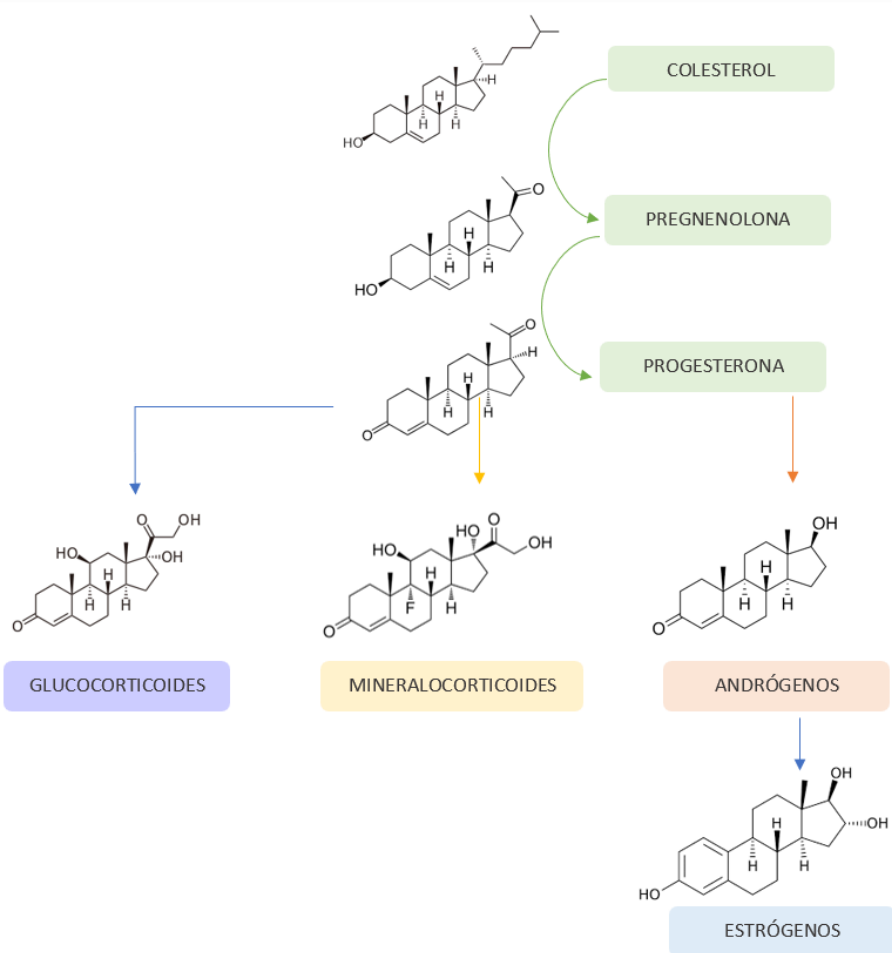


Figura 8. Síntesis de las hormonas a partir de su precursor: el colesterol. La vía biosintética de los esteroideas mostrando el número de carbonos que compone su estructura. Se indican las cuatro clases de esteroideas finales: glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos. (Modificado de Morales y cols., 2007).

1.6.2 Hormonas esteroides sexuales.

Las hormonas esteroides sexuales se denominan de esta manera debido a que participan en la diferenciación y desarrollo sexual del sistema reproductor femenino y masculino. El esteroide sexual femenino más destacado es el 17β -estradiol, perteneciente a la familia de los estrógenos; la progesterona perteneciente a la familia de los pregnanos y la testosterona que pertenece a la familia de los androstanos (Becerro, 2008). Todos estos esteroides se encuentran presentes en hombres y en mujeres en concentraciones plasmáticas diferentes, y también muestran cambios a lo largo de la vida, especialmente en las mujeres durante el ciclo menstrual, la menopausia, el embarazo y la lactancia (Becerro, 2008); aunque en los hombres durante la andropausia también existen cambios hormonales relacionados con el proceso de envejecimiento, sin embargo, estas variaciones hormonales no son tan bruscas como lo son en las mujeres (López, 2013).

1.6.3 Rol de las hormonas en la diferenciación sexual cerebral.

En los mamíferos, incluyendo a los humanos hay una diferenciación sexual del organismo antes del nacimiento (Dorantes y cols., 2005). Es sabido que la presencia del cromosoma “Y” induce la formación de testículos, mientras que su ausencia promueve el desarrollo de los ovarios, esta diferenciación gonadal tiene lugar en las primeras doce semanas posteriores a la concepción (Bakker, 2021). De forma específica, el gen *Sry* (del inglés sex-determining region Y), ubicado en el cromosoma “Y”, codifica para la síntesis de la proteína tdf (del inglés, testis determining factor), que actúa en la diferenciación de las gónadas bipotenciales hacia gónadas masculinas; en las mujeres quienes reciben el cromosoma “X” del padre este gen no se encuentra presente, por lo que se conducirá a una diferenciación gonadal femenina, que es el sistema predeterminado (Berta y cols., 1990).

La esteroidogénesis gonadal orquesta el desarrollo del tracto reproductivo y de los genitales externos durante la primera mitad de la gestación, para que se concrete la diferenciación masculina, los testículos deben ser funcionales y morfológicamente normales, es importante que la secreción de andrógenos y testosterona por las células de Leydig y la secreción de la

hormona antimülleriana (AMH) por parte de las células de Sertoli se lleve a cabo (Parera, 2019). Como se mencionaba con anterioridad, en ausencia del gen *Sry* el sistema que se desarrolla es femenino, en el que se conserva el sistema de conductos de Müller y comienza la degeneración de los conductos de Wolff, debido a la falta de producción de andrógenos (véase figura 9; Parera, 2019).

La diferenciación sexual cerebral comienza alrededor de las ocho semanas y termina a las 24 semanas posteriores a la concepción (Bakker, 2021), la testosterona a nivel cerebral es convertida a estradiol a través de la enzima aromatasasa, ahí actúa sobre receptores a estrógenos llevando a cabo la regulación de procesos celulares que subyacen al desarrollo del dimorfismo sexual del cerebro que se encargan de controlar conductas sexuales de los individuos (Martínez, 2013); en un cerebro masculinizado ante la presencia de la testosterona ocurren cambios en el hipocampo, la amígdala, el núcleo de la estría terminal y el núcleo preóptico medial, donde incrementan el número de neuronas; en el núcleo ventromedial del hipotálamo hay mayor número de sinapsis y las neuronas son más grandes; en el núcleo paraventricular específicamente en la región ventral hay menor número de neuronas y en el núcleo arcuato del hipotálamo hay un menor número sinapsis (Sacher y cols., 2012; Guasti y cols., 2015; Cahill, 2005)

Estas regiones cerebrales cumplen un papel importante ya que se encargan del control de mecanismos responsables de la conducta sexual y de regular la secreción hormonal (Bao y Swabb, 2011). La diferenciación sexual cerebral continúa incluso después del nacimiento, en los niños se presenta un pico de testosterona a los tres meses de edad y en las niñas un pico de estradiol a esa misma edad, niveles que decrecen gradualmente hasta el segundo año de vida (Winter, y cols., 1976).

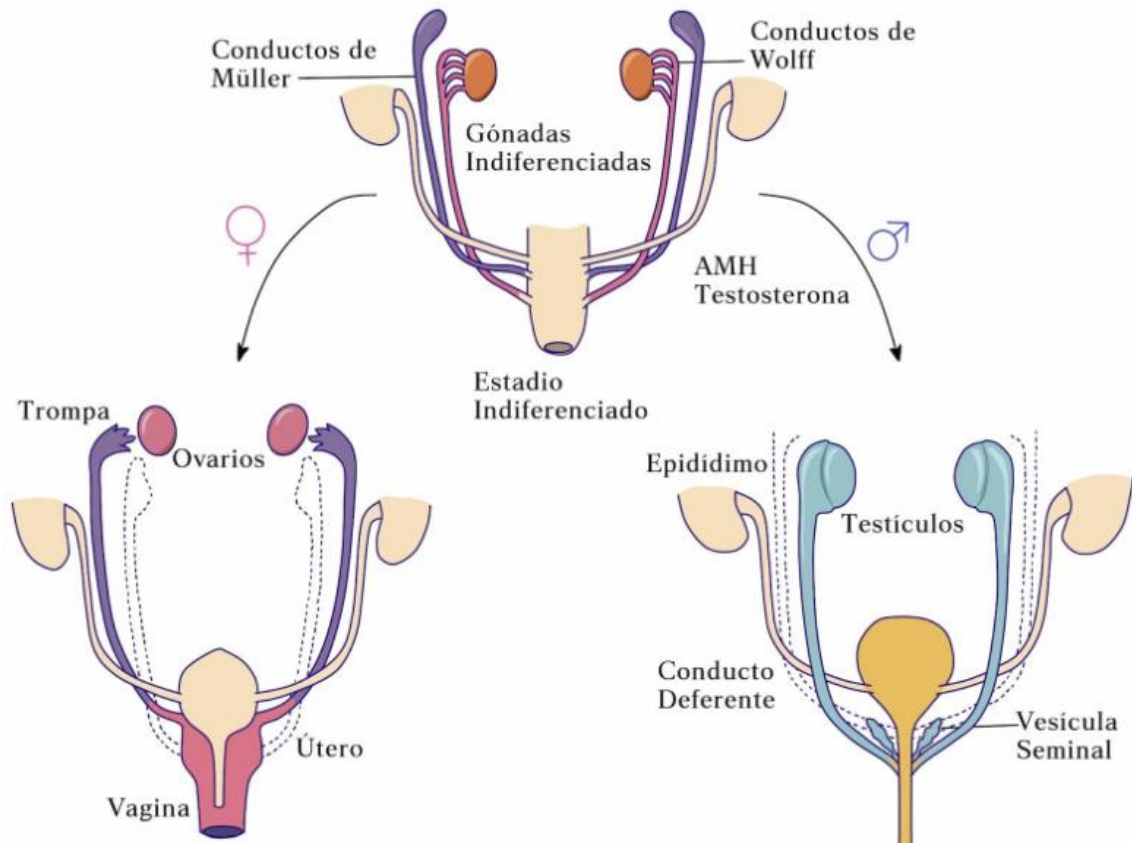


Figura 9. Esquematación de la diferenciación sexual de las gónadas bipotenciales. Se muestran los cambios que se presentan en las gónadas dependiendo de si hay presencia o no de los andrógenos y la formación de gónadas femeninas a la izquierda y gónadas masculinas a la derecha (Tomado de Tachdjian, 2017).

1.7 Modelos animales de crisis de ausencia.

Los modelos animales son fundamentales para el estudio de las crisis de ausencia, éstos surgen a partir de la necesidad de estudiar con detalle las alteraciones fisiológicas, anatómicas y patológicas que están asociadas a este tipo de crisis, en base a esto se requiere la caracterización de estas alteraciones con el fin de establecer sus mecanismos anatomo-histopatológicos, los cuales son fundamentales para formular estrategias terapéuticas más eficaces. Existen dos tipos de modelos animales para el estudio de las crisis de ausencia: los modelos inducidos a través de fármacos y los modelos genéticos (Eguibar y Cortés, 2010).

1.7.1 Modelos farmacológicos para el estudio de las crisis de ausencia.

Entre los modelos farmacológicos están los inducidos por la administración de dosis bajas de pentilinetetrazol un convulsivante; así como la administración sistémica de AY-9944 (1,4-bis-[2- clorobenzilaminometil]-ciclohexano dihidrocloruro) que inhibe la biosíntesis del colesterol e inducen crisis de ausencia atípicas (Smith, y cols., 1990); o bien la administración de 4,5,6,7- tetrahidroisoxazolo-[5,4-c]piridina-3-ol (THIP) un agonista selectivo para el receptor de ácido gamma-aminobutírico tipo A (GABA_A) que induce crisis de ausencia típicas (Vergnes, y cols., 1984).

1.7.2 Modelos genéticos para el estudio de las crisis de ausencia.

Existen modelos genéticos de crisis de ausencia que poseen alteraciones en un solo gen, los descritos son:

- Ratón Stargazer: presenta una mutación en el cromosoma 15 en la región que codifica para la subunidad $\gamma 2$ del canal de Ca^{++} , con ataxia, movimientos de cabeza y descargas tipo espiga-onda prolongadas (Letts y cols., 1998).
- Ratón letárgico: con alteración en el cromosoma 2, afecta la subunidad $\beta 4$ del canal de calcio (Ca^{++}), el cual presenta crisis motoras, descargas tipo espiga-onda con frecuencia de 5 a 7 Hz, letargo y ataxia (Burgess y cols., 1997).
- Ratón Tottering: tiene una mutación en el cromosoma 8 que codifica para la subunidad $\alpha 1$ del canal de Ca^{++} , presenta ataxia, convulsiones y descargas espiga-onda (Fletcher y cols., 1996).
- Ratón Leaner: posee una mutación en el cromosoma 8 que codifica para la subunidad $\alpha 1$ del canal de Ca^{++} , con ataxia severa y descargas tipo espiga-onda, este modelo muere al momento del destete debido a otras alteraciones en el sistema nervioso central (Noebels, 1984).
- Ratón Mocha: el cual tiene una mutación en el cromosoma 10, modificando la subunidad delta del complejo de proteínas AP-3 involucrado en el transporte intracelular de proteínas asociadas con el lisosoma, ocasionando ataxia, sordera, hiperactividad y descargas tipo espiga-onda (Sarkisian, 2001).

- **Ratón Ducky:** el cual tiene una mutación en el cromosoma 8 que codifica para la subunidad $\alpha 2/\delta 2$ del canal de Ca^{++} , y que muestra ataxia, discinesia paroxística, alteraciones en la marcha y descargas espiga-onda (Sarkisian, 2001).

1.7.3 La rata con Epilepsia de Ausencia Genética de Strasburgo (GAERS).

En 1982 Vergnes y Marescaux estudiando modelos farmacológicos de epilepsia parcial, y al realizar registros electroencefalográficos basales en ratas Wistar detectaron que más de un 30% de estas presentaron descargas espiga-onda de manera espontánea, mediante un proceso de cruce endogámico entre estas ratas, se obtuvo la línea de ratas con epilepsia de ausencia genética de Estrasburgo en Francia, a la cual denominaron *GAERS*, por sus siglas en inglés Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg (Vergnes y cols., 1982).

Las crisis de ausencia en las ratas *GAERS* se presentan a partir de los 30 días de edad, con una frecuencia y duración bajas pero que incrementan conforme avanza la edad de los sujetos, alcanzando un pico máximo de frecuencia a los seis meses y una duración máxima a los 18 meses de edad, continuando así toda la vida del animal (Marescaux y cols., 1992). Las DEOs de este modelo animal se han caracterizado mediante electroencefalografía, las cuales presentan frecuencias de entre 7 a 11 Hz, con una amplitud de 300 a 1,000 μV y con duración de 0.5 a 40 segundos, presentándose con una frecuencia de 40 a 60 por minuto (véase figura 10). Adicionalmente, se presentan síntomas similares a los humanos con un arresto conductual, espasmos en las vibrisas, en los músculos faciales y en los músculos de la nuca (Vergnes y cols., 1982).

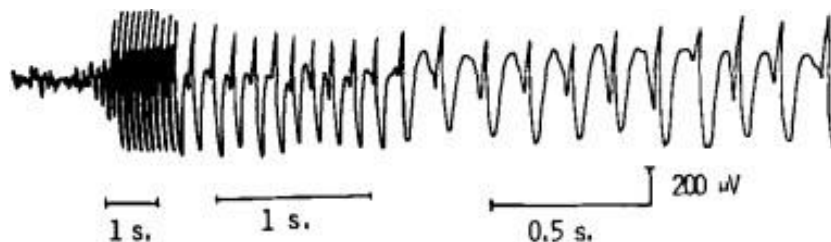


Figura 10. Descarga espiga-onda en una rata *GAERS*. Registro electroencefalográfico obtenido de la corteza frontoparietal durante una crisis de ausencia en rata *GAERS* macho de seis meses de edad, se indican en las barras las escalas de amplitud y temporales (Modificado de Marescaux y cols., 1984).

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

La rata WAG/Rij surgió en 1924 en los laboratorios Glaxo en el Reino Unido y posteriormente fue llevada a Rijswijk en los Países Bajos para su reproducción, de ahí su nombre. En 1986 van Luijtelaar y Coenen estudiando el patrón de sueño-vigilia mediante electroencefalograma (EEG), observaron que estas ratas presentaban las descargas espigonda espontáneas (vanLuijtelaar y Coenen, 1986).

Las crisis de ausencia en las ratas WAG/Rij se caracterizan por presentar DEOs con frecuencias de 7.5 a 9.5 Hz, con una amplitud de 100 a 450 μv , una duración aproximada de 5 segundos y se presentan un promedio de 18 complejos de DEOs por hora (véase figura 11), (van Luijtelaar y Coenen, 1986). Conductualmente las ratas presentan inmovilidad, espasmos en las vibrisas, en los párpados y se acelera su ritmo respiratorio; en este grupo de ratas las crisis de ausencia comienzan alrededor de los tres meses de edad, incrementando su aparición y su duración conforme la rata madura hasta alcanzar un pico máximo a los seis meses de edad tanto en las hembras como en los machos (Coenen y van Luijtelaar, 1987).

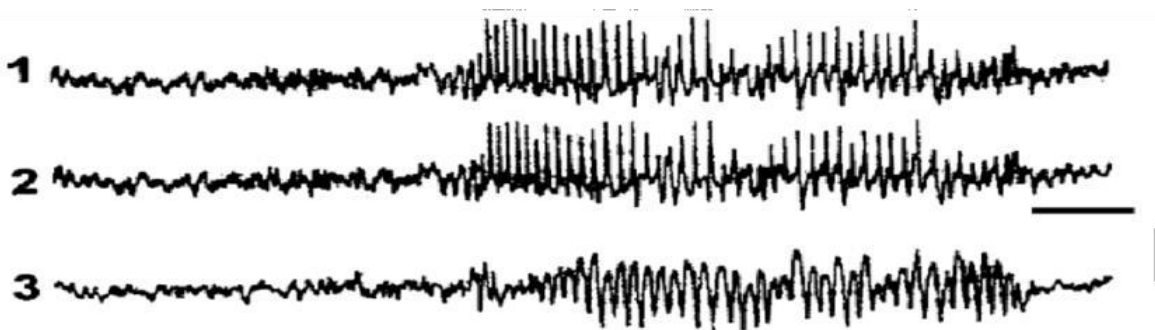


Figura 11. Patrón característico de DEOs en una rata Wistar Albino Glaxo de Rijswijk adulta. Registro electroencefalográfico en tres canales corticales: 1. Corteza frontal; 2. Corteza parietal y 3. Corteza occipital. La barra horizontal equivale a un tiempo de 1 segundo, y la vertical a una amplitud de 500 μV (Tomado y modificado de Midzynavovskaya, y cols., 2004).

1.7.5 La rata *taiep* como modelo de crisis de ausencia.

Un modelo caracterizado para el estudio de las crisis de ausencia son las ratas *taiep*, descritas por primera vez en 1989 por Holmgren y colaboradores; su nombre proviene del acrónimo de los signos motores característicos que presenta a lo largo del primer año de vida de esta mutante: temblor, que se presenta a las cuatro semanas de edad; ataxia que inicia a los cuatro meses de edad; epilepsia, que se presenta desde los tres meses de edad en machos y a partir de los seis meses de edad en hembras y por último inmovilidad, iniciando a partir de los seis meses con un pico de incidencia a los nueve meses de edad y parálisis del tren posterior, que se manifiesta después de los 12 meses de edad (Cortés y cols., 2005). Este modelo animal fue obtenido a través de una mutación espontánea durante el proceso de entrecruzamientos endogámicos para obtener una sublínea de ratas con alta tasa de bostezo espontáneo a partir de la cepa Sprague-Dawley en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, siendo su fenotipo heredado de manera autosómica recesiva (Holmgren y cols., 1989).

La fisiopatología de la rata *taiep* es causada por una acumulación de los microtúbulos en el citoplasma de los oligodendrocitos, afectando el transporte de las proteínas desde el retículo endoplásmico rugoso hacia la porción cis del aparato de Golgi, por ende, se ve disminuido el transporte de proteínas de la mielina tales como la proteína básica de mielina (MBP), la proteína proteolípida (PLP), la glicoproteína asociada a mielina (MAG), Couve y cols., 1997), lo que da como resultado una hipomielinización inicial, seguida de una desmielinización progresiva de los axones únicamente a nivel de sistema nervioso central, (véase figura 12; Duncan y cols., 1992).

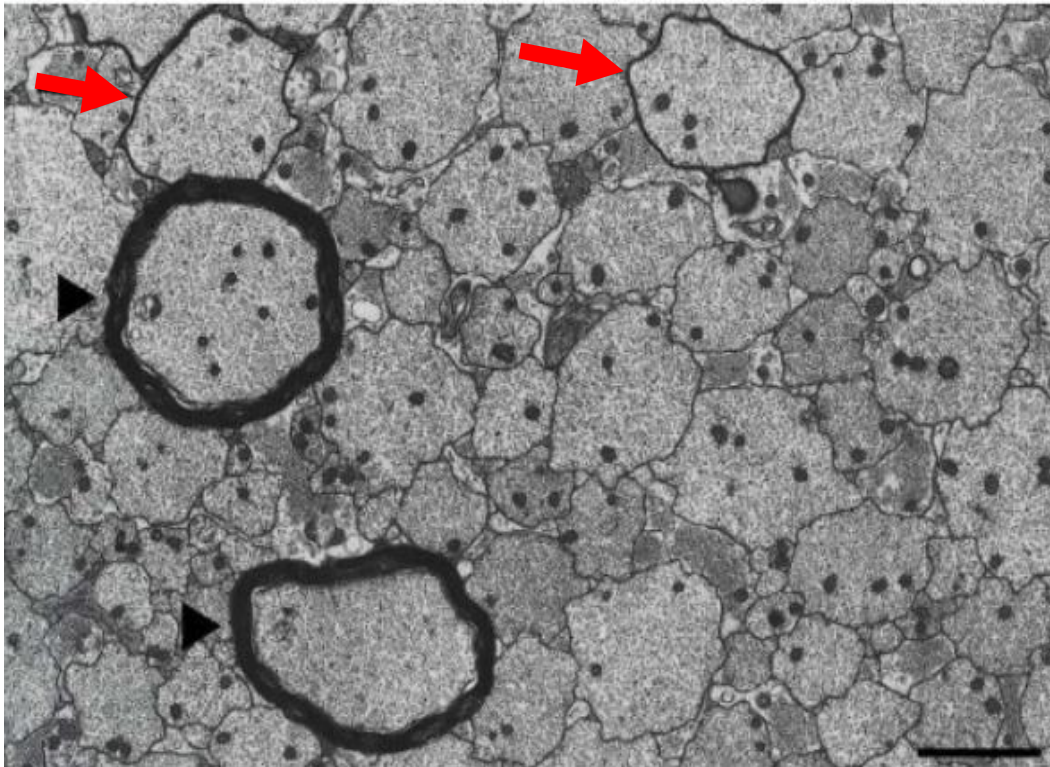


Figura 12. Microscopia electrónica en ratas *taiep* de 12 meses de edad. Se encuentran señalados dos axones con vaina de mielina intacta en color negro intenso, y con flechas rojas dos axones amielínicos. Barra de la escala 0.2 μm (Modificado de Duncan y cols., 1992).

Las crisis de ausencia en este modelo animal comienzan a partir de los tres meses de edad en los machos y a los seis meses de edad en las hembras, continuando durante toda la vida del animal; las DEOs se presentan principalmente durante la fase de oscuridad y en el periodo de vigilia quieta (Eguibar y Cortés, 2010; Ibarra-Hernández y cols., sometido a consideración editorial). En 2010 se reportó que las crisis de ausencia de las ratas *taiep* son similares a las que se registran en las ratas GAERS y WAG/Rij, ya que las DEOs que presentan tienen una frecuencia principal entre 4 a 8 Hz, con duración de 5.7 segundos y un promedio de 68 crisis por hora, por lo que podría utilizarse como un modelo para el estudio de las crisis de ausencia, (véase figura 13, Eguibar y Cortés, 2010; Ibarra-Hernández y cols., sometido a consideración editorial).



Figura 13. Descargas espiga-onda en la corteza cerebral e hipocampo en una rata *taiep* macho adulta. Cx1 = registro de la corteza frontal; Cx2 = corteza parietal y Hp = registro parietal del hipocampo. Note el patrón característico espiga-onda (Modificada de Eguibar y Cortés, 2010).

Durante las crisis de ausencia en la rata *taiep*, además de la actividad bilateral y síncrona a nivel cerebral, se detiene la actividad conductual que se encontraba realizando de manera súbita, con mirada fija y una vez terminada la crisis de ausencia retoma la conducta motora previa al inicio de la crisis (Eguibar y Cortés, 2010). Dado que es un modelo bien caracterizado, podría ser de ayuda para estudiar de manera amplia el papel de las hormonas esteroideas sexuales en las crisis de ausencia tanto en las hembras como en los machos.

La rata *taiep* también es el primer modelo animal para el estudio de la tubulinopatía: hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo (H-ABC), una leucodistrofia humana que es ocasionada por una mutación puntual, presentando un cambio de ‘G por A’ en el exón 4B, lo que implica un cambio de una alanina por una treonina en la posición 302 (Garduno-Robles y cols., 2020) en el gen para tubulina β 4A (*tubb4a*) que se encuentra expresado principalmente en los oligodendrocitos. Esta mutación altera la interacción de las α y β -tubulinas que son fundamentales en el ensamble y desensamble de los microtúbulos, ocasionando una acumulación de estos en el soma de los oligodendrocitos que conllevan a una hipomielinización temprana, seguida de un proceso de desmielinización progresiva; acompañada de atrofia en los ganglios basales y en el cerebelo que se observa en imágenes de resonancia magnética, características que coinciden con las de los humanos que padecen H-ABC (véase figura 14; Garduno-Robles y cols., 2020).

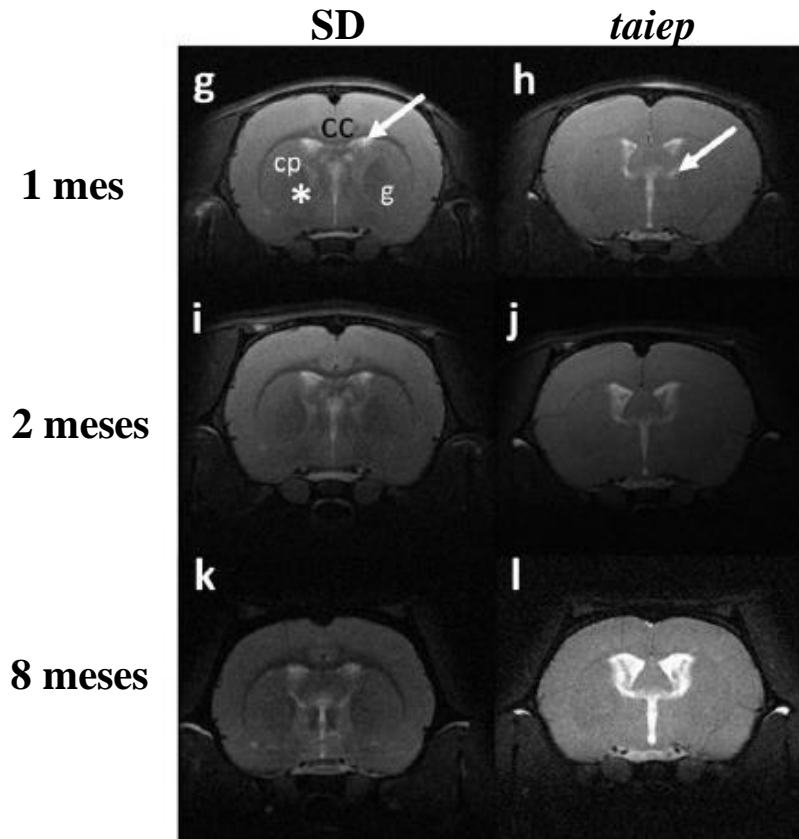


Figura 14. Imágenes por Resonancia Magnética de ratas Sprague-Dawley (SD) y ratas *taiep*. Se observan cortes coronales a las edades de 1, 2 y 8 meses; en las ratas SD es posible distinguir el cuerpo calloso (cc), el caudado-putamen (cp) del globo pálido (g) y la cápsula interna (*); mientras que en la rata *taiep* estas estructuras son indistinguibles. (Modificado de Garduno-Robles y cols., 2020).

2. ANTECEDENTES.

2.1 ANTECEDENTES GENERALES.

2.1.1 Participación de las hormonas sexuales en la epilepsia.

A través de los años, gracias al estudio de las hormonas sexuales se han mostrado sus efectos sobre la excitabilidad neuronal, la expresión de proteínas y cambios genéticos (Guasti, 2015). De manera importante se pueden estudiar los cambios derivados del desarrollo y cambios en los niveles plasmáticos de los estrógenos, la progesterona y los andrógenos (Woolley y Swartzkroin, 1998). Tomando en consideración que en los modelos animales las crisis de ausencia se presentan a lo largo de toda su vida, los convierte en modelos factibles para estudiar la epilepsia de tipo ausencia durante la diferenciación sexual, el ciclo estral, el embarazo, la lactancia y la senectud (Jarre y cols., 2017; Russo y cols., 2016).

Se ha descrito que las hormonas esteroides son capaces de modificar la expresión del receptor GABA_A, este receptor está ligado a un canal de cloro transmembranal constituido por las subunidades: α , β , γ , δ , ϵ y ρ (Keramidas y cols., 2004). Adicionalmente, se ha mostrado que este receptor modula la génesis de las DEOs, por ende, los cambios que pueda ocasionar la expresión de las hormonas esteroides pueden modificar cómo opera este receptor y de esta manera contribuir al incremento o disminución de las DEOs (van Luijtelaar y cols., 2014).

Los estudios que mejor han caracterizado la influencia de las hormonas en las crisis de ausencia se han realizado en dos modelos animales como lo son: las ratas GAERS y las ratas WAG/Rij debido a que ambas presentan un patrón similar de DEOs característico de las crisis de ausencia en los humanos (Malafosse, 1994; Coenen y van Luijtelaar, 1987).

En las ratas GAERS se ha observado un notorio dimorfismo sexual, ya que en los machos las crisis de ausencia comienzan a presentarse con menor duración, las cuales disminuyen con la edad ,y en cuanto a las crisis de ausencia aún no se tiene clara la relación entre el papel de las hormonas esteroides sexuales y la aparición de las DEOs (van Luijtelaar y cols., 2014).

En las ratas WAG/Rij se ha mostrado que las hormonas son capaces de modificar la incidencia de las DEOs en este modelo animal, ya que en la fase del proestro se incrementan las DEOs (van Luijelaar y cols., 2001) y al realizar la ovariectomía también se incrementan las DEOs tanto en su duración como en su frecuencia (Tolmancheva y cols., 2004). Se han analizado y correlacionado las variaciones hormonales en el embarazo de ratas WAG/Rij y como fluctúa la frecuencia de las DEOs en los diferentes estadios de la gestación, una de las variaciones principales es el incremento en el nivel sérico de progesterona debido a su producción a partir de la placenta, pero se han obtenido efectos opuestos al administrar progesterona en animales no gestantes (Tolmancheva y cols., 2004). Por lo que a la fecha no se tienen resultados contundentes respecto al rol de las hormonas esteroideas en la frecuencia y la duración de las DEOs.

2.1.2 Testosterona y su metabolismo.

La testosterona es la principal hormona sexual masculina de la familia de los esteroides sexuales, es producida en los testículos en amplias cantidades, específicamente en las células de Leydig (Lawrence y cols., 2010), el principal papel de esta hormona en los humanos son las características sexuales secundarias como son el timbre de voz, aumento de la masa muscular, distribución del vello corporal, morfogénesis genital y contribuye a la función sexual (Navarrete y cols., 2009). Es por esto que se ve relacionada a la testosterona con lo masculino, sin embargo, se encuentra también presente en las mujeres y es secretada por los ovarios, pues es la hormona precursora del estradiol, ésta conversión de testosterona hacia 17β -estradiol ocurre en las células de la granulosa en el folículo primario a través del complejo enzimático de la aromatasa (Morales y cols., 2007).

La síntesis de la testosterona es mediada por el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, el hipotálamo se encarga de segregar la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH de sus siglas en inglés Gonadotropin-Releasing Hormone) que a su vez estimula la producción de la hormona foliculoestimulante (FSH, de sus siglas en inglés Follicle-Stimulating Hormone) y de la hormona luteinizante (LH de sus siglas en inglés

Luteinizing Hormone) en la adenohipófisis, la LH es la encargada de regular y estimular la biosíntesis de la testosterona en las células de Leydig, donde se escinde la cadena lateral del colesterol para dar paso a la pregnenolona y a partir de ahí se produce la testosterona (véase figura 14; Navarrete, y cols., 2009).

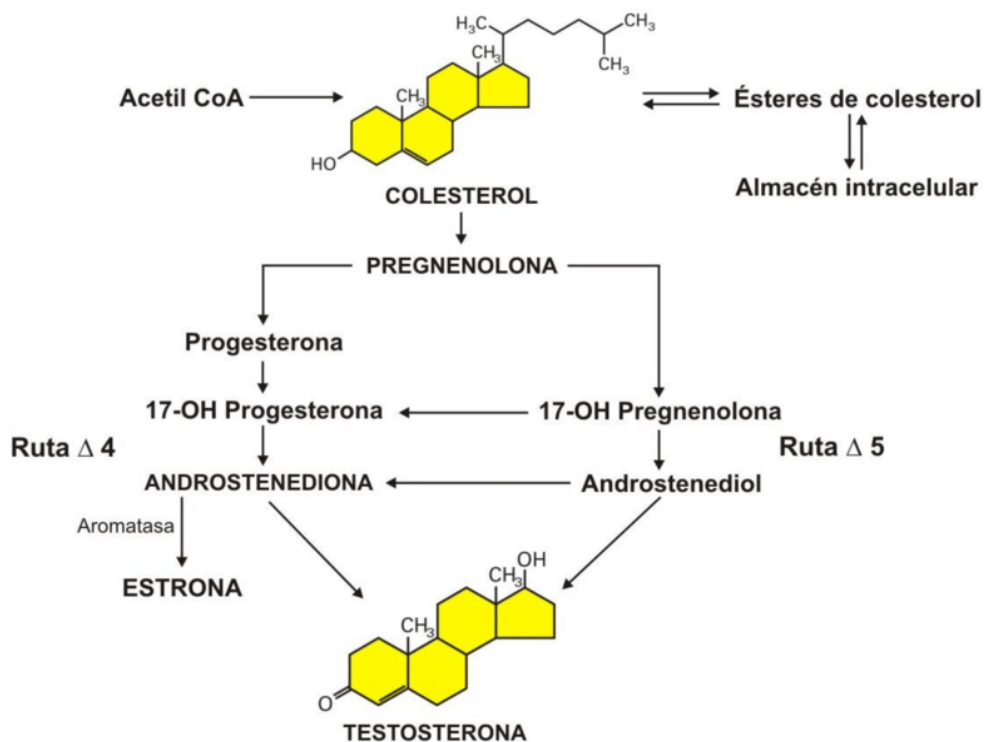


Figura 14. Ruta de biosíntesis de la testosterona. Se esquematiza como a partir de su precursor el colesterol, se promueve la vía biosintética que tiene como paso final la producción de testosterona: pregnenolona, progesterona, androstenediona, androstenediol. (Tomado y modificado de Rojas, y cols., 2015).

Las concentraciones plasmáticas de la testosterona varían de acuerdo a la edad y el sexo del individuo, en un hombre adulto sano en promedio se producen de 5 a 7 mg de testosterona al día, una vez sintetizada es secretada hacia el torrente sanguíneo, el 90% de la testosterona a nivel plasmático es secretada por las células de Leydig, mientras que el 10% restante por las glándulas suprarrenales (Gómez-Chang, y cols., 2012). La secreción de la testosterona es variada y se ajusta a un ritmo circadiano, ya que su pico máximo de secreción es al final de la noche y durante las primeras horas de la mañana (Hayes y cols., 2010).

En cuanto a su metabolismo, después de difundir sobre las células diana, la testosterona es convertida a través de la enzima 5α -reductasa lo que produce 5α -dihidrotestosterona, que posee mayor actividad biológica que la testosterona; la testosterona puede ser convertida a 17β -estradiol mediante la acción de la enzima aromatasa (véase figura 15), (Rojas y cols., 2015).

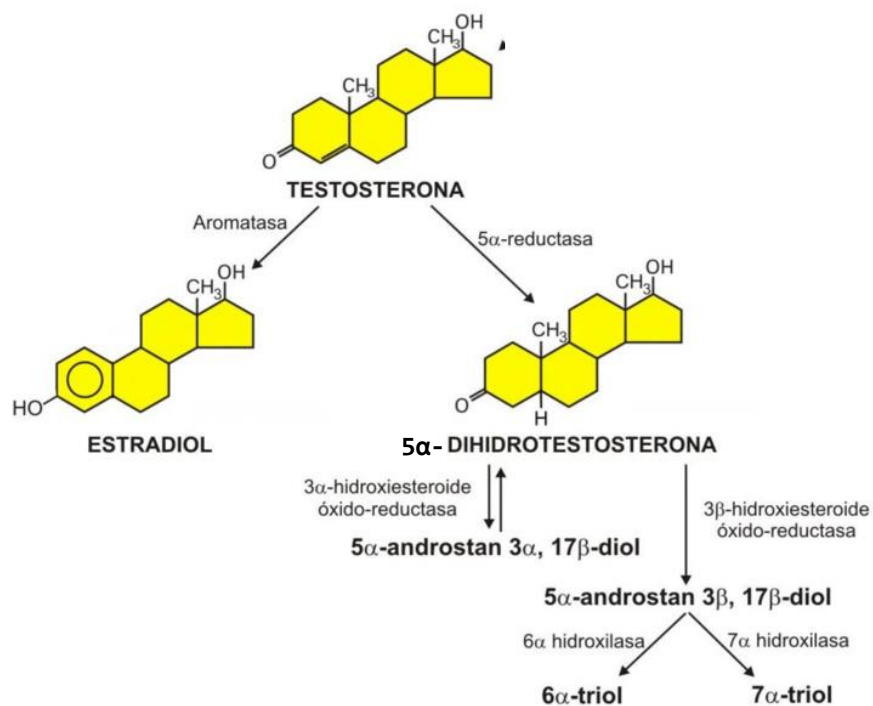


Figura 15. Rutas metabólicas de la testosterona. Dependiendo de la enzima que participe, puede darse la conversión de la testosterona hacia estradiol por acción de la enzima aromatasa; o a dihidrotestosterona por acción de la 5α -reductasa (Tomado y modificado de Rojas y cols., 2015).

Con el estudio de la testosterona, se comenzó a utilizar como tratamiento en la clínica para pacientes con hipogonadismo, que se caracteriza por una disfunción testicular que conlleva a un déficit en la espermatogénesis y de la síntesis de la testosterona (Escalante y cols., 2015). El tratamiento con testosterona, es dado principalmente a través de inyecciones intramusculares o intraperitoneales de ésteres de testosterona, debido a que la testosterona no ejerce su acción al ser administrada de manera aislada (Nieschlag y cols., 2014). Uno de los

principales ésteres de testosterona utilizado como tratamiento de reemplazo hormonal es el propionato de testosterona, que posee una vida media de dos días y su metabolismo es realizado en el hígado, debido a su corta vida media en el organismo es recomendado para estudios a corto plazo (Behre y cols., 2016).

2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

2.2.1 Rol de la testosterona en las crisis de ausencia.

En estudios en humanos está bien caracterizada la influencia de la testosterona y de la 5 α -dihidrotestosterona en la actividad cerebral, esto gracias a que se ha visto que pacientes con epilepsia tienen reducciones prematuras y aceleradas de los niveles de andrógenos (Verrotti y cols., 2007). En el caso de las mujeres se ha observado que los niveles de testosterona aumentan durante la ovulación, los cuales exacerban la actividad de las crisis en la epilepsia denominada catamenial (Verrotti y cols., 2007).

En varios estudios en animales se ha mostrado que la testosterona tiene diversos efectos diferentes en la epilepsia, por ejemplo, efectos pro-epilépticos que dependen de la dosis, la edad de los animales y del tipo de epilepsia que se induce (Reddy y cols., 2004; Fyre y cols., 2001). En contraste el segundo neuroesteroide derivado de la testosterona, el androstanediol, tiene un papel protector en los mismos modelos convulsivos en los que se observaron los efectos diversos de la testosterona (Reddy y cols., 2004).

La administración de forma exógena de testosterona también tiene un efecto proepiléptico en ratones y en ratas con epilepsia inducida por pentilinetetrazol, dicho efecto se ve inhibido al administrar letrozol, un bloqueador de la enzima aromatasa que se encarga de la conversión de testosterona hacia 17 β -estradiol (Reddy y cols., 2013); por lo que se ha propuesto que la acción proepiléptica de la testosterona es mediada por su conversión a estradiol y no por un efecto directo de la testosterona (Reddy y cols., 2004). Estos hallazgos experimentales concuerdan con el incremento en la severidad de las crisis epilépticas debidas a niveles

elevados de estradiol como sucede durante la fase ovulatoria o al ser administrado exógenamente en modelos animales (Van Luijtelaar, y cols., 2014).

En cuanto al papel que juega la testosterona en las crisis de ausencia, se ha analizado en pocos estudios. Entre ellos el realizado con las ratas WAG/Rij, al administrar de forma sistémica testosterona, (van Luijtelaar y cols., 2009); sin embargo, no se ha podido demostrar un efecto relevante de la testosterona y su metabolito el estradiol sobre las DEOs (van Luijtelaar y cols., 2014), y la conversión de testosterona en estradiol en este modelo animal no parece tener un rol primordial en la modulación de las DEOs.

Los efectos a largo plazo de la testosterona también han sido evaluados al castrar ratas WAG/Rij machos y hembras. Los resultados de estos estudios muestran que en las ratas que fueron castradas, es decir, en los machos sin presencia de testosterona, se produjo una mayor actividad de las DEOs que en ratas intactas; que en las ratas ovariectomizadas y en las ratas hembra intactas; por lo que se propuso que la testosterona tiene un papel neuroprotector contra las crisis de ausencia en los machos en este grupo de ratas (van Luijtelaar y cols., 1996).

3. JUSTIFICACIÓN.

El papel que juegan las hormonas esteroides en las crisis de ausencia no está claramente dilucidado dado que varían sus efectos de acuerdo a la cepa, mutante, línea, sublínea y el sexo del modelo animal estudiado (van Luijtelaar y cols., 2014). Debido a que los niveles de las hormonas esteroides sexuales fluctúan a lo largo de la vida de hombres y de mujeres, es fundamental comprender el rol que tienen como moduladoras de las crisis de ausencia; y como podrían afectar en la incidencia o supresión de estas. Por sus efectos contrastantes, es importante dilucidar los efectos de la testosterona, mediante el estudio de sus mecanismos de acción y el estudio de sus derivados activos como la 5α -dihidrotestosterona (5α -DHT), a partir de lo que se pueden proponer nuevas perspectivas terapéuticas hormonales para la epilepsia de tipo crisis de ausencia.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las crisis de ausencia son un tipo de epilepsia que afecta al 2% de la población mundial (Acevedo, 2008), y en México son alrededor de 2.5 millones de personas las que presentan epilepsia, de las cuales 63 mil padecen crisis de ausencia (Secretaría de Salud, 2019), ocasionando problemas neurológicos en quienes la padecen, además de otras afecciones que traen consigo como trastornos psiquiátricos, problemas psicológicos, dificultad en las relaciones sociales y problemas económicos (Acevedo, 2008).

Es evidente la falta de evidencia que existe acerca del papel que cumple la testosterona en el inicio y mantenimiento de las crisis de ausencia, dado a que se ha estudiado a mayor profundidad a ciertas hormonas esteroides como son la progesterona, o el 17β -estradiol, es indispensable conocer también como afecta la presencia o ausencia de la testosterona en la incidencia de las DEOs; con base en esta evidencia, el objetivo de este trabajo es conocer los efectos que posee la testosterona sobre las crisis de ausencia en la rata *taiep* macho adulta y determinar qué mecanismos están participando en la regulación de las descargas espiga-onda.

5. HIPÓTESIS.

H1: La administración de propionato de testosterona es capaz de modificar las crisis de ausencia en las ratas *taiep* macho de 165 días postnatales de edad previamente orquiectomizadas.

H0: La administración de propionato de testosterona no modifica las crisis de ausencia en las ratas *taiep* macho de 165 días postnatales de edad previamente orquiectomizadas.

6. OBJETIVOS.

6.1 OBJETIVO GENERAL.

- Describir el efecto que tiene el propionato de testosterona en las crisis de ausencia en ratas *taiep* macho de 165 ± 1 días postnatales.

6.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

- Describir y cuantificar el efecto de la administración sistémica y aguda de propionato de testosterona sobre la frecuencia, la duración y la latencia de las crisis de ausencia en ratas *taiep* macho de 165 ± 1 días postnatales.
- Analizar el efecto de la administración sistémica y aguda de propionato de testosterona sobre el número total de descargas espiga-onda en las ratas *taiep* macho de 165 ± 1 días postnatales.

7. MATERIALES Y MÉTODOS.

7.1 Sujetos

Se utilizaron ratas *taiep* macho de 165 ± 5 días postnatales de edad, mantenidos en cajas de acrílico transparente con una cama de viruta de madera comprimida (Chip, Estados Unidos de América), con un ciclo de luz oscuridad 12:12 con encendido de las luces a las 07:00 horas, con temperatura controlada a 21 ± 2 °C y humedad de 30 a 45%, agua purificada Ciel® (CocaCola™, México) y alimento balanceado para roedores (LabDiet 8001, Purina Mills®, Estados Unidos de América), ambos a libre acceso.

Todos los procedimientos contemplados en este estudio fueron realizados bajo los códigos y leyes de la Norma Oficial Mexicana para especificaciones técnicas del cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999); además de seguir la guía del cuidado y uso de animales de laboratorio 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 experimental fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, no. 0025.

7.2 Orquiectomía

En ratas *taiep* de 165 ± 5 días postnatales, se realizó la orquiectomía mediante una incisión simple escrotal para exteriorizar y retirar los testículos; para este procedimiento se indujo anestesia mediante una inyección intraperitoneal con ketamina (Anesket, Pisa, México) a una dosis de 75 mg/kg más xilacina (Procin®, Cheminova™, México) a una dosis de 5 mg/Kg, y posteriormente se administró meglumina de flunixin (Napzin®, Pisa, México) a una dosis de 0.2mg/Kg como analgésico pre-operatorio y post-operatorio por vía subcutánea (s.c.) en la región dorsal del cuello.

7.3 Cirugía estereotáxica.

Las ratas *taiep* macho orquiectomizadas, fueron sometidas a un implante de electrodos en condiciones de asepsia, mediante cirugía estereotáxica, con la ayuda de un aparato estereotáxico tipo Kopf (Modelo 900LS Steolting, Estados Unidos de América), que se

realizó a los 180 días postnatales. Para este procedimiento se administró anestesia por vía intraperitoneal: ketamina (75 mg/Kg) más xilacina (5 mg/Kg); se colocó y fijó a la rata en el estereotáxico, para limpiar la zona se utilizó yodopovidona al 10% (Isodine®, México) posteriormente se realizó una incisión media a lo largo del cráneo con una hoja de bisturí y se hizo la remoción del periostio con una legra, se realizaron 4 trépanos en las regiones frontal, occipital y parietal donde fueron colocados 3 electrodos de tornillos de acero inoxidable y el cuarto trépano para la colocación de un electrodo bipolar de profundidad en el hipocampo derecho en la región CA1 del hipocampo para el registro de la actividad electroencefalográfica, siguiendo las coordenadas estereotáxicas del atlas de Paxinos y Watson (2007): anteroposterior -4 mm, mediolateral -2.5 mm y dorsoventral -2.5 mm, utilizando la sutura craneal bregma como punto 0 de referencia estereotáxica, (véase figura 16). Adicionalmente se colocaron 2 electrodos de nicromio en los músculos de la nuca para el registro electromiográfico y uno más en la parte posterolateral de la órbita ocular izquierda para el registro electrooculográfico; para fijar los electrodos al cráneo se utilizó acrílico dental (Nic Tone®, México).

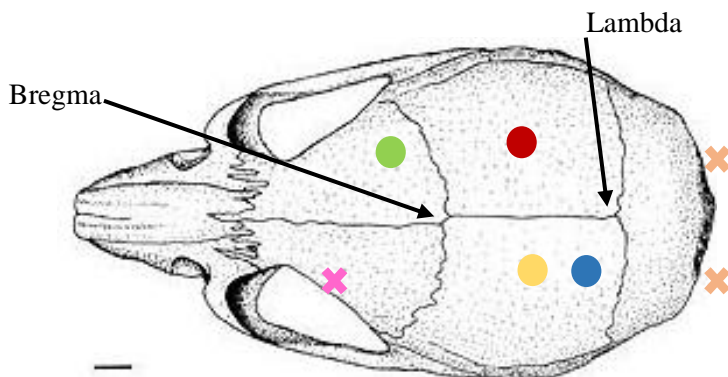


Figura 16. Ubicación de los electrodos para el registro electroencefalográfico en la rata *taiiep*. Con flechas se indica la ubicación de las suturas craneales bregma y lambda. Se esquematiza la ubicación de los electrodos implantados en la cirugía estereotáxica. En color verde el electrodo frontal, en color amarillo el parietal, en color azul el occipital, en rojo el electrodo de hipocampo, en cruz color rosa la ubicación del electrodo para el electrooculograma y en cruz color naranja la ubicación de los electrodos de la nuca.

7.4 Habitación pre-registro.

Con el fin de que la rata se habituara a las condiciones del registro electroencefalográfico, se colocó durante tres horas por tres días en condiciones experimentales, en una caja de acrílico transparente con una cama de viruta de madera, agua y comida a libre acceso en un cuarto sonoamortiguado y aislado eléctricamente.

7.5 Registro electroencefalográfico.

Para obtener la actividad electroencefalográfica, los registros se realizaron durante 24 horas, con inicio a las 08:00 horas. A las ratas *taiep* macho de 190 días postnatales, se les realizó un registro control utilizando aceite de oliva extravirgen a una dosis de 1 mL/Kg, y dos días después se llevó a cabo el registro con administración de propionato de testosterona en una dosis de 4 mg/Kg, diluido en aceite de oliva; ambas administraciones por vía s.c. en la región dorsal del cuello.

Con el fin de analizar el número de descargas tipo espiga-onda, la frecuencia, la duración, y latencia, además del registro de la actividad eléctrica cerebral, se obtuvo la grabación en video de la actividad conductual de cada rata empleando una cámara de videograbación de alta definición (Sony, Japón), Una vez obtenidos los registros fueron analizados para evaluar la actividad electroencefalográfica de cada rata antes y después de la administración de la testosterona. Para la obtención del registro electroencefalográfico se utilizó la unidad para registro de EEG Grael LT System, (Compumedics®, Reino Unido), para el registro de las descargas espiga-onda se obtuvo la señal digitalizada en el programa NetBeacon (Network Router, Reino Unido) y para calificar los registros el programa Profusion Sleep (Compumedics®, Reino Unido) bajo un sistema de cómputo con el sistema operativo (Windows®, EUA).

7.6 Criterios de selección de los sujetos.

Criterios de inclusión.

Para los resultados se incluirán únicamente ratas *taiep* macho:

- De 165 días postnatales \pm 5 días de edad.
- Que no presenten signos de estrés.
- Que posterior a los procedimientos las ratas cuenten con un registro electroencefalográfico control de 24 horas de duración, así como con un registro electroencefalográfico de 24 horas de duración posterior a la administración de propionato de testosterona vía sistémica.

Criterios de exclusión.

Se excluyeron ratas del estudio que:

- Presentaron signos de estrés.

Criterios de eliminación

Se descartará inmediatamente una rata del experimento cuando:

- Presente alguna infección posterior a la cirugía.
- Presente signos evidentes de estrés como disminución drástica de peso corporal, falta de aseo, acumulación de secreción de porfirinas de las glándulas de Hander en el ojo y/o nariz, o comportamiento agresivo.
- Hay caída del implante de electrodos antes o durante los registros electroencefalográficos.

7.7 Criterios de selección de 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. Cada una de las descargas espiga-onda presentan una fase de ascenso de la amplitud de la señal seguida de una de descenso hasta restaurarse la actividad cortical previa a la crisis.
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 abrupto.
6. Las ratas conductualmente deben permanecer inmóviles durante el periodo de la descarga espiga-onda.

Una vez identificadas las crisis de ausencia se analizó de manera manual 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. Así como el número total de crisis durante las 24h del registro y el periodo intercrisis.

7.8 Recursos financieros.

Los recursos financieros fueron proporcionados por el proyecto PRONACES-CONACYT No. 194171; por la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (VIEP-BUAP 2021-2022) al Cuerpo Académico Neuroendocrinología 2023 (BUAP-CA-288). La alumna recibió un apoyo como ayudante de investigador nivel III José Ramón Eguibar Cuenca, a favor de OEYL, CVU 1273239.

8. RESULTADOS

8.1 Efectos de la administración de propionato de testosterona en la frecuencia de las descargas espiga-onda.

En la frecuencia de las DEOs no se obtuvieron cambios significativos al comparar los registros controles de las ratas *taiep* macho adultos orquiectomizados con la administración del vehículo contra los registros de las ratas *taiep* macho adultos orquiectomizadas con administración de 4 mg/Kg de propionato de testosterona (PT), (véase figura 17).

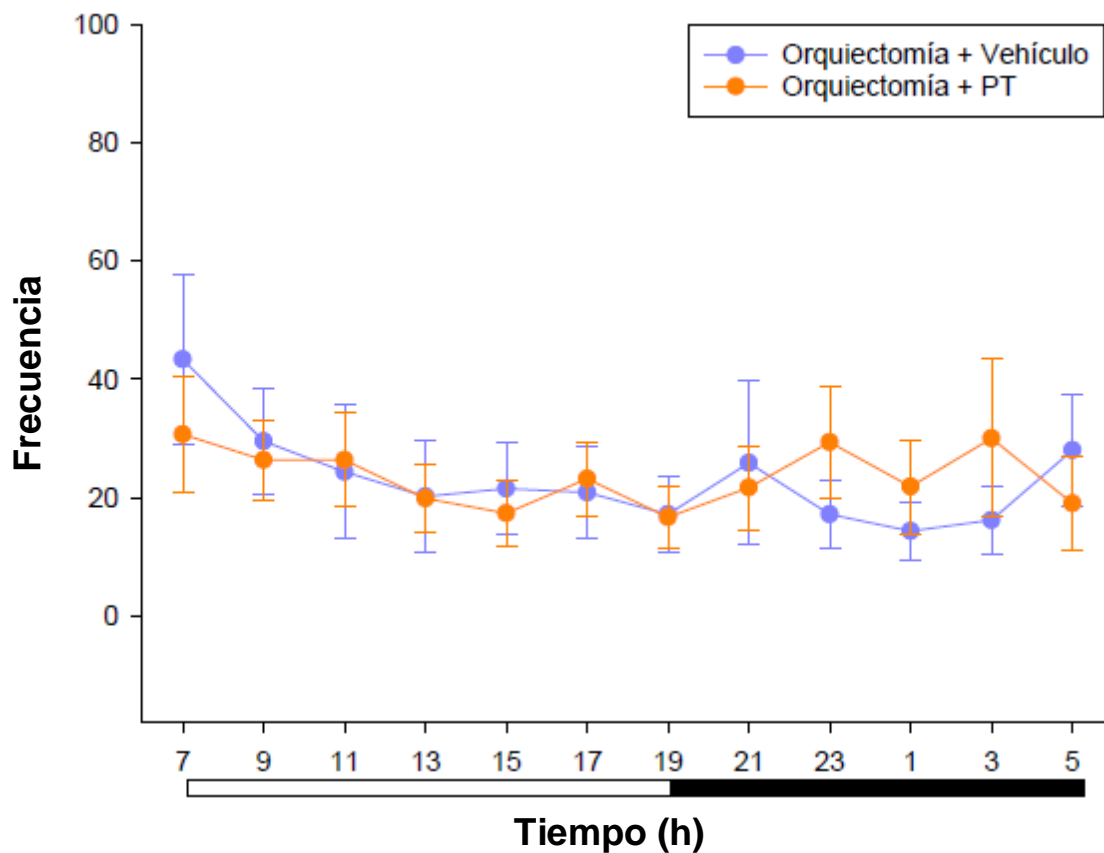


Figura 17. Frecuencia de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* a lo largo del ciclo circadiano.. No se obtuvieron cambios significativos en la frecuencia de las descargas espiga-onda al comparar los registros electroencefalográficos previos y posteriores a la administración de propionato de testosterona (prueba de la t de Student₍₅₎ = -3.833, $P > 0.5$).

8.2 Efectos de la administración de propionato de testosterona sobre la duración de las descargas espiga-onda.

La duración de las DEOs incrementó de forma significativa en los periodos de 19:00 y 03:00 cuando se administró 4 mg/Kg de propionato de testosterona. Adicionalmente se muestra una tendencia a incrementar la duración de las DEO durante las 24 horas del registro electroencefalográfico, (véase figura 18). A las 19:00 horas, se obtuvo un incremento de un 46.7% (2.5 s; prueba de la t de Student₍₅₎=-3.203, P < 0.01 con respecto al grupo control 3.3 s). A las 03:00 horas, se obtuvo un incremento del 48% (2.5 s; prueba de la t de Student₍₅₎=-2.470, P < 0.05 con respecto al grupo control, con tan solo 2.3 s).

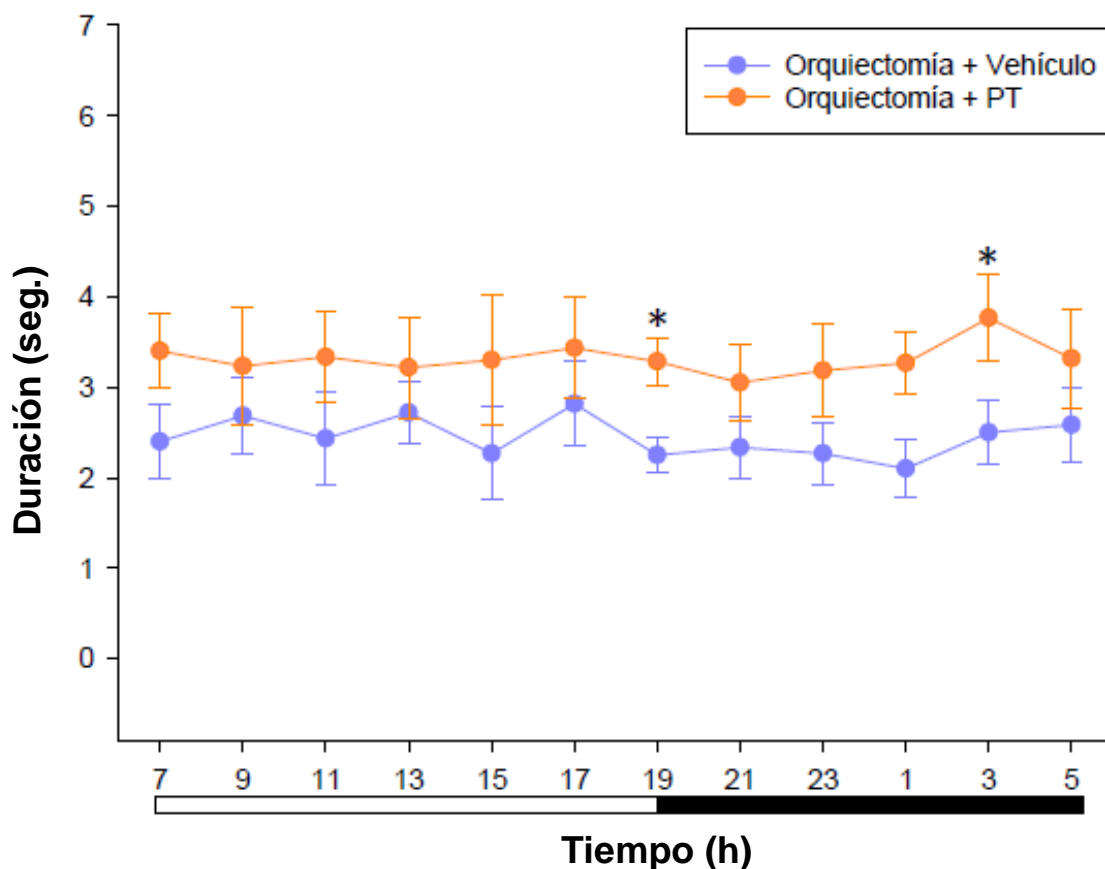


Figura 18. Duración de las descargas espiga-onda en ratas *taiep* macho a lo largo del ciclo circadiano. Se obtuvo una diferencia significativa *(P<0.05) durante 2 periodos de tiempo, a las 19:00 horas (prueba de la t de Student₍₅₎= -3.203, P<0.05) ya las 03:00 horas (prueba de la t de Student₍₅₎=-2.470). La duración de las DEO fue mayor siempre en ratas a las que se les administró propionato de testosterona.

8.3 Efectos de la administración de propionato de testosterona sobre la latencia.

La administración del vehículo respecto de la administración de 4 mg/Kg de propionato de testosterona en ratas *taiep* macho adultos orquiectomizados, no produjo un cambio significativo en la latencia al primer evento de descarga espiga-onda. Note que se obtuvo una tendencia a incrementar el tiempo de latencia a la primer DEO en el registro posterior a la administración de propionato de testosterona (prueba de la t de Student₍₅₎ = -1.599, P>0.5; véase figura 19).

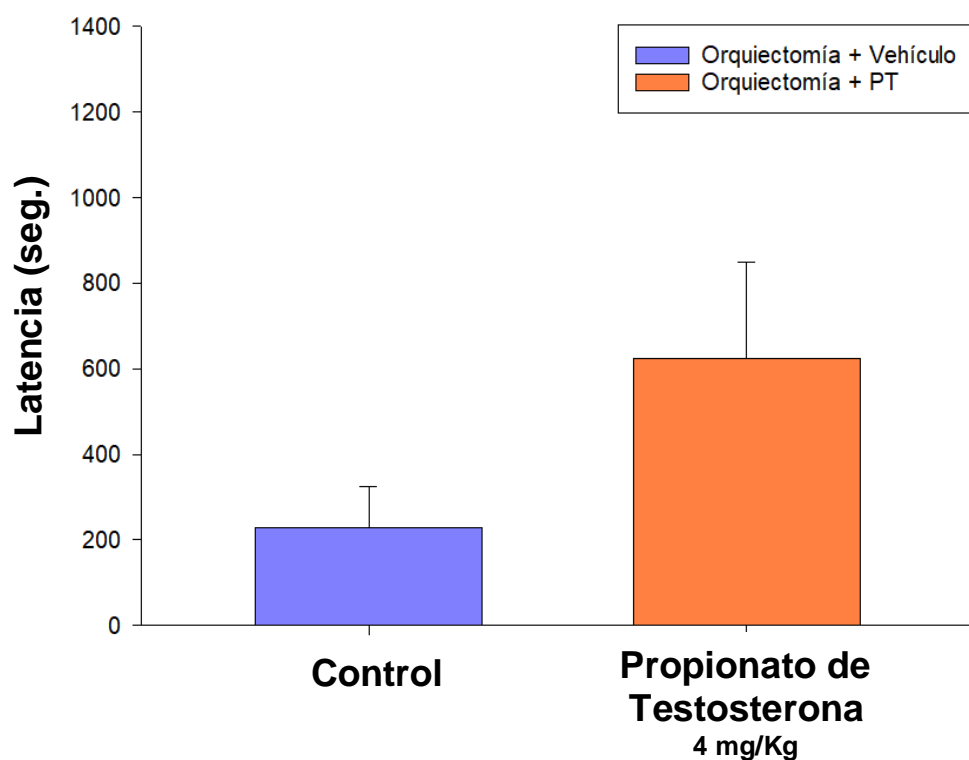


Figura 19. Latencia en segundos al primer evento descarga espiga-onda. Se la latencia al primer evento de DEO en segundos posterior a la administración del vehículo (azul) y posterior a la administración de propionato de testosterona (PT; naranja) en ratas *taiep* macho adultos orquiectomizadas. Al administrar propionato de testosterona se incrementó la latencia al primer evento (prueba de la t de Student₍₅₎ = -1.599, P>0.5).

9. DISCUSIÓN

Los mecanismos fisiopatológicos mediante los que ocurre la generación y el mantenimiento de las DEOs son aún desconocidos (van Luijtelaar y cols., 2014); tanto en los humanos como en modelos animales experimentales se ha propuesto a las hormonas esteroideas sexuales como un factor importante en el inicio de las DEOs, esto derivado de las diferencias asociadas al sexo que se han encontrado en los humanos, ya que estadísticamente se ha mostrado que existe una mayor tasa de mujeres diagnosticadas con epilepsia de tipo ausencia que hombres (Nicolson y cols., 2004); a pesar de esto, existen a la fecha pocos estudios en modelos animales que se centren en determinar las diferencias dependientes del sexo (van Luijtelaar, y cols., 2001). La mayoría de los estudios en relación a las hormonas esteroides se centran en explicar las disfunciones sexuales o los cambios en las concentraciones hormonales posterior a la administración de los fármacos antiepilépticos (Carvalho, y cols., 2023). Es por esto que en este trabajo se muestra la influencia de la testosterona en el inicio y el mantenimiento de las DEOs en la adultez de la rata *taiep*, un modelo animal para el estudio de las crisis de ausencia.

Los neuroesteroides son capaces de modificar la duración y la frecuencia de apertura del canal de Cl^- del receptor GABA_A (Twyman y cols., 1992); en el caso de la testosterona esta hormona funge como un modulador alostérico positivo del receptor GABA_A , es decir, que este receptor permanecerá abierto por un mayor tiempo, permitiendo la entrada de iones Cl^- hacia el interior de la membrana, produciendo una hiperpolarización prolongada de la neurona, provocando de este modo la exacerbación de las crisis de ausencia (Banerjee y cols., 1998), esto se ha observado tanto en humanos como en ratas ya que la administración de neuroesteroides que modulan positivamente al receptor GABA_A produce un incremento en la frecuencia y/o duración de las DEOs en las ratas WAG/Rij y en las ratas GAERS (Tolmancheva y cols., 2007). Debido a esta capacidad de los neuroesteroides de modificar la neuroexcitabilidad en el cerebro es probable que los cambios y diferencias en los niveles de hormonas esteroides circulantes en hombres y mujeres pudieran estar contribuyendo al dimorfismo sexual observado en las DEOs (van Luijtelaar y cols., 2014).

En cuanto a la testosterona y sus metabolitos, el papel que juegan en la epilepsia es contrastante, ya que poseen efectos duales dependiendo de la dosis administrada, la cepa y la edad del animal estudiado, es sabido que la testosterona posee efectos proepilépticos en la epilepsia de tipo convulsiva (Frye y cols., 2001); ejemplo de esto es un estudio realizado en ratas con epilepsia inducida con pentilinetetrazol (PTZ), muestran que la testosterona actuó como un proepiléptico, ya que al administrar la testosterona tanto en ratas como en ratones se requirió de una dosis menor de PTZ para inducir las crisis convulsivas; este efecto fue revertido al administrar letrozol, el cual es un inhibidor de la enzima aromatasas, que es la que se encarga de la conversión de testosterona hacia el 17β -estradiol (Reddy y cols., 2004), esto concuerda con estudios que demuestran el papel proepiléptico del 17β -estradiol (Scharfman y cols., 2005). En cuanto a las crisis de ausencia, no se ha mostrado que el 17β -estradiol posea un efecto que modifique la frecuencia de las DEOs, y al administrar testosterona en ratas WAG/Rij, la frecuencia de aparición de las DEOs disminuyen significativamente, por lo que en este tipo de epilepsia la testosterona si podría estar ejerciendo un papel directo en los circuitos neuronales involucrados en la incidencia de las DEOs (van Luijtelaar y cols., 2009^a).

En este trabajo en la latencia al primer evento de descarga espiga-onda no se obtuvo un cambio significativo al administrar el propionato de testosterona (PT), sin embargo, como se puede observar en los resultados el tiempo que transcurre hasta la aparición de la primera DEO es mayor en el grupo al cual se le administró propionato de testosterona, por lo que la testosterona podría estar ejerciendo un papel protector en los primeros minutos tras su administración sistémica. Estos resultados son consistentes con los obtenidos en estudios previos realizados en ratas WAG/Rij, en las que al administrar testosterona la frecuencia de aparición de las DEOs disminuyó significativamente durante la primer hora y posterior a este lapso de tiempo se incrementaron en frecuencia y duración de las DEOs (van Luijtelaar y cols., 2009); por otro lado el metabolito de la testosterona, la 5α -dihidrotestosterona tiene la capacidad de actuar como un antagonista de los receptores excitatorios como lo es el N-metil-D-aspartato (NMDA) un receptor ionotrópico de glutamato y, los antagonistas de este receptor tienden a reducir las DEOs (van Luijtelaar y cols., 2014); por lo que la testosterona

podría estar ejerciendo un efecto inmediato como supresor de las DEOs por un efecto directo o mediado por su conversión hacia 5 α -dihidrotestosterona (van Luijtelaaar y cols., 2014).

Como ya ha sido mencionado, la frecuencia de aparición de las DEOs es mediada por un circuito entre neuronas GABAérgicas de la corteza somatosensorial y del núcleo reticular talámico (McCafferty, y cols., 2021); la administración de PT en este estudio no ocasionó cambios significativos en la frecuencia de aparición de las DEOs, esto podría ser derivado de la previa orquiectomía realizada a las ratas, ya que en trabajos anteriores realizados en la rata *taiep* se ha demostrado que la orquiectomía en ratas adultas ocasiona un incremento en la frecuencia de aparición de las DEOs y así mismo la administración sistémica y aguda de testosterona en una dosis de 1 mg/kg no modificó la frecuencia de las DEOs posterior a la orquiectomización de las ratas (Grados, 2019; Cortés y cols., 2022). Esta evidencia concuerda con un estudio realizado en ratas WAG/Rij, a las cuales se les administró de forma aguda dosis altas de testosterona y no se obtuvieron cambios en la aparición de las DEOs (van Luijtelaaar y cols., 2009b). Por lo que al administrar incluso una dosis aguda de testosterona como la utilizada en este trabajo de 4mg/kg tampoco ocasionó cambios significativos.

En cuanto a la duración de las crisis de ausencia, esta incrementó durante todo el ciclo circadiano de la rata, siendo dos periodos de tiempo (a las 19:00 horas y a las 03:00 horas) en los que se obtuvieron diferencias significativas al administrar el PT. Estos resultados son consistentes con lo que se ha mostrado en otros trabajos, en los que al parecer la testosterona tiene un papel exacerbador de las crisis de ausencia, pero este efecto es indirecto, ya que a nivel de SNC, como ya se ha mencionado, la testosterona es capaz de ser convertida a 5 α -dihidrotestosterona que posteriormente es convertida a androstanediol en las células gliales del hipocampo (Reddy y cols., 2010). El androstanediol es un homólogo estructural y funcional de la alopregnanolona (van Luijtelaaar y cols., 2010), y se ha demostrado que estos dos neuroesteroides tienen la capacidad de incrementar la inhibición GABAérgica a nivel del tálamo a través de su unión selectiva a los receptores GABA_A (Reddy y cols., 2010).

En los humanos se ha relacionado al ciclo sueño-vigilia con las descargas espiga-onda ya que estas aparecen con mayor frecuencia durante la transición de la vigilia hacia el sueño de ondas lentas (Kellaway, 2014; Benetó y cols., 2007), en la rata *taiep* el patrón del ciclo sueño-vigilia se encuentra alterado durante todo el ciclo circadiano, ya que tienden a presentar mayor proporción del sueño durante la fase de oscuridad (Cortés, 2012), esto podría explicar porque se incrementó la duración de las DEOs durante el periodo de las 19:00 horas, dado que esta es la etapa del cambio de fase de luz-oscuridad.

Tomando en cuenta que la frecuencia de aparición de las DEOs no se modificó al administrar el PT, pero la duración si incrementó considerablemente y en ciertos periodos de tiempo de forma significativa, podrían establecerse nuevas perspectivas de estudio ya que los mecanismos que subyacen al inicio y al mantenimiento de las crisis de ausencia podrían ser activados de manera distinta, ya que las vías que se ven involucradas estarían respondiendo de manera diferenciada no solo a la testosterona, sino también a sus metabolitos, así como de otras hormonas esteroideas, principalmente los estrógenos.

En este trabajo con el objetivo de eliminar la fuente principal de producción de testosterona se realizó la orquiectomización de las ratas, sin embargo, se ha demostrado que es posible que la testosterona sea sintetizada a partir del colesterol en el SNC, específicamente en el neuronas del hipocampo, conocidos como neuroesteroides, los cuales juegan un papel relevante en circuitos locales (Fester y cols., 2021). A futuro sería conveniente realizar mediciones de las concentraciones de testosterona circulante previas y posteriores al proceso de orquiectomización, además sería también un trabajo relevante la administración crónica de propionato de testosterona y estudiar el efecto que este tiene a largo plazo sobre las DEOs en la rata *taiep*; o la aplicación local de androstanediol en el circuito tálamo-cortical, particularmente en el núcleo reticular del tálamo, donde se ha mostrado que es capaz de modular las DEOs (Ibarra, 2022).

10. CONCLUSIONES.

1. El propionato de testosterona modificó de manera significativa la duración de las DEOs, demostrando que es capaz de participar de forma distinta en el inicio y en el mantenimiento de las DEOs.
2. La testosterona puede interactuar de forma directa o a través de sus metabolitos a nivel del SNC, por lo que dependiendo de la vía metabólica que ejerza es capaz de incrementar o disminuir a las DEOs.

11. PERSPECTIVAS

Evaluar los efectos de la administración en el núcleo reticular talámico de la testosterona y de sus principales metabolitos que son neuroesteroides como el androstandiol, para estudiar de qué manera son capaces de modular en esta estructura el inicio y el mantenimiento de las DEOs.

12. REFERENCIAS.

Acevedo, C. y Miranda, C. (2008). Informe sobre la Epilepsia en Latinoamérica. Organización Panamericana de la Salud. Panamá.

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

Banerjee, P. y Snead, O. (1998). Neuroactive steroids exacerbate gamma-hydroxybutyric acid-induced absence seizures in rats. *European Journal of Pharmacology*, **1**:41-48.

Bao, A. y Swaab, D. (2011). Sexual differentiation of the human brain: relation to gender identity, sexual orientation and neuropsychiatric disorders. *Front Neuroendocrinol*, **32**: 214-226.

Becerro, M. (2008): Las hormonas esteroideas sexuales, el envejecimiento y el ejercicio. *Rev Andaluza Med*, **1**: 22-36.

Benetó, A., Santa, A., Soler, S., Cambra, M., Salas, A. y Gómez, E. (2007). La relación sueño-epilepsia. *Vigilia y Sueño*, **19**: 15-24.

Behre, H., Wang, C., Handelsman D., y Nieschlag, E. (2016). Pharmacology of testosterone preparations. *Transl Adrol Urol*, **6**: 834-843.

Berta, P., Hawkins, B., Sinclair, A., Taylor, A., Griffiths, B., Goodfellow, P. y Fellous, M. (1990). Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature*, **348**: 448-450.

Brandan, N., Llanos, C., Miño, C., Gerometta, P. y Sandrigo, S. (2008). Receptores Hormonales. Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Medicina. Recuperado de: <http://www.uaz.edu.mx/histo/Biologia/FaiUnneAr/Pdf/receptor.pdf>.

Brigo, F., Trinka, E., Lattanzi, S., Bragazzi, N., Nardone, R., y Martini, M. (2018). A brief history of typical absence seizures – Petit mal revisited. *Epilepsy and Behavior*. **80**: 345-353.

Burgess, D., Jones, J., Meisler, M. y Noebels, J. (1997). Mutation of the Ca²⁺ Channel β Subunit Gene *Cchb4* Is Associated with Ataxia and Seizures in the Lethargic (lh) Mouse. *Cell*, **88**: 385-392.

- Cahill, L. (2005). His brain, her brain. *Scientific American*, **292**: 40-47.
- Cardellá, L. y Hernández, M. (2014). Comunicación entre las células del organismo. En *Bioquímica médica, tomo III Metabolismo Intermediario y su Regulación*. 2ed por Cardellá, L. Editorial Ciencias Médicas, 1008-1009.
- Carvalho, V., Colonna, I., Curia, G., Ferretti, M., Arabia, G., Molnar, M., Lebedeva, E., Moro, E., de Visser, M., y Bui, E. (2023). Sex steroid hormones and epilepsy: Effects of hormonal replacement therapy on seizure frequency of postmenopausal women with epilepsy- A systematic review. *Eur J Neurol*, **9**: 2884-2898.
- Cedillo, L., Ruíz-García, I. y Jiménez, J. (2018). Clinical relevance of GABAB receptors in the drug addiction treatment. *Rev Mex Neuroci*, **19**: 32-42.
- Coenen, A. y van Luijtelaar, J. (1987). The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors, *Epilepsy Res*, **1**: 297-301.
- Cope, D., Di Giovanni, G., Fyson, S., Orbán, G., Errington, A., Lörincz, M., Gould, T., Carter, S. y Crunelli V. (2009). Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat Med*, **15**: 1392-1398.
- Cortés, C., Gavito, B., Ita, M., 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.
- Crunelli, V., Cope, D. y Terry, J. (2011). Transition to absence seizures and the role of GABAA receptors. *Epilepsy Research*, **97**: 283-289.
- Crunelli, V., Loncricz, M., McCafferty, C., Lambert, R., Leresche, N., Giovanni, G., y David, F. (2020). Clinical and experimental insight into pathophysiology, comorbidity and therapy of absence seizures. *BRAIN*, **143**: 2341-2368.
- Dorantes, L., y Medina, P. (2005). Ernest Starling y el nacimiento de la Endocrinología. *Hosp Inf Mex*, **62**: 307-309.
- Duncan, I., Lunn, K. y Holmgren, B. (1992). The taiep rat: A myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *J Neurocytol*, **21**: 870-884.

Eguibar, J. y Cortés, C. (2010). Modelos de crisis de ausencia en roedores. *Gac.Med. Mex.* **146**, 332-338.

Eguibar, J. y Cortés, C. (2010). El mutante de mielina *taiep* como un modelo de crisis de ausencia. *Gac Med Mex*, **146**: 11-18.

Filip M, Frankowska M. (2008). GABAB receptors in drug addiction. *Pharmacol Rep*, **6**: 755-70.

Fester, L. y Rune, G. (2021). Sex neurosteroids: Hormones made by the brain for the brain. *Neuroscience letters*, **14**: 753-785.

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

Fisher, R., Cross, J., D'Souza, C., French, J., Haut, S., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F., Lagae, L., Moshé, S., Peltola, J., Roulet E., Scheffer, I., Schulze- Bonhage, A., Somerville, E., Sperling, M., Yacubian, E., Zuberi, S., (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, **58**: 531–542.

Frye, C., Rhodes, M., Walf, A. y Harney, J. (2001). Testosterone reduces pentylenetetrazole-induced ictal activity of wildtype mice but not those deficient in type I 5alpha-reductase. *Brain Res*, **9**: 182-186.

Gallagher, M., 2020. Reconsidering network mechanisms in absence seizures: unhitching the wave cart from the spike horse. *Epilepsy Curr*, **1**:64-66.

García-Contreras, F., Constantino-Casas, P., Castro-Ríos, A., Nevárez-Sida, A., Estrada-Correa, G y Rivera, F. (2006). Direct medical costs for partial refractory epilepsy in Mexico. *Arch Med Res*, **37**: 376-383.

Garduno-Robles, A., Alata, M., Plaza, V., Cortés, C., Eguibar, J., Pantano, S. y Hernández, V. (2020). MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Front Neurosci*, **14**: 1-12.

Gerald, J. y Eugene, D. (1995). Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy. *Endocrine Rev*, **16**: 608.

Gilbert, B., Lopez, R. y Gregorio, P. (2010). Epilepsia. En Tratado de Geriatria para Residentes. 1ed. 519-530.

Gómez-Chang, E., Larrea F. y Martínez, F. (2012). Signaling pathways associated to steroidogenesis. *TIP, UNAM*, **15**: 24-36.

Guasti, A., Hernández, S. y García, C. (2015). Diferenciación sexual del cerebro. *Ciencia*, **1**: 16-23.

Guit, A., Assal, D., Al-Shami, A. y Hussein D. (2021). GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, **19**: 123-138.

Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L. y SaenzdeMiera, E. (1989). Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Lab Anim Sci*, **39**: 226-228.

Holst, J., Soldin, O., Guo, T. y Soldin, S. (2004). Steroid hormones: relevance and measurement in the clinical laboratory. *Clin Lab Med*, **24**: 105-118.

Jarre, G., Altwegg-Boussac, T., Williams, M., Florian, S., Chipaux, M., David, O., Charpier, S., Depaulis, A., Mahon, S. y Guillemain, I. (2017). Building Up Absence Seizures in the Somatosensory Cortex: From Network to Cellular Epileptogenic Processes. *Cerebral Cortex*, **27**: 4607-4623.

Kaila, K., Ruusuvuori, E. y Seja, P. (2014). GABA actions and ionic plasticity in epilepsy. *Curr Opin Neurobiol*, **26**: 34-41.

Korpi, E. y Sinkkonen, S. (2006). GABA (A) receptor subtypes as targets for neuropsychiatric drug development. *Pharmacol Ther*, **109**: 12-32.

Lawrence, D., Gordon, F., y Baker, S. (2010). Interactions of cortisol, testosterona, and resistance training: influence of circadian rhythms. *Chronobiology International*, **27**: 675-705.

Letts, V., Felix, R., Biddlecome, G., Arikath, J., Mahaffey, C., Valenzuela, A., Bartlett, F., Mori, Y., Campbell, K. y Frankel, W. (1998). The mouse stargazer gene encodes a neuronal Ca²⁺ - channel y subunit. *Nature genetics*, **19**: 340-347.

López, T. (2013). Derivados del colesterol, ácidos biliares y hormonas. *FarmaciaLas Fuentes*. 1-7.

Lüttjohann A. y van Luijtelaa G. 2022. The role of the thalamic nuclei in genetic generalized epilepsy. *Epilepsy Research*, **182**: 1-17.

Malafosse, A., (1994). Pathophysiological mechanisms of experimental generalized absence seizures in rats. En Idiopathic generalized epilepsies: clinical, experimental and genetic aspects. 1ed, por Malafosse. Editorial John Libbey, 133-154.

Marescaux, C., Vergnes, M. Depaulis, A. (1984). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg-a review. *J. Neural Transm. Suppl.* **35**: 37-69.

Marescaux, C., Vergnes, M. (1995). Genetic Absence Epilepsy in Rats from Strasbourg (GAERS). *Ital. J. Neurol. Sci.* **16**: 113-118.

Martínez-Morga, M., Navarro-Cremades, F. y Martínez, S. (2013). Desarrollo del dimorfismo sexual en el cerebro: el origen de la identidad y la conducta sexual. *Rev Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana*, **30**: 12-17.

McCafferty, C., Gruenbaum, B., Tung, R., Li, J.J., Salvino, P., Vincent, P., Kratochvil, Z., Ryu, J.H., Khalaf, A., Swift, K., Akbari, R., Islam, W., Antwi, P., Johnson, E.A., Vitkovskiy, P., Sampognaro, J., Freedman, I., Kundishora, A., Sanganahalli, B.G., Herman, P., Hyder, F., Crunelli, V., Depaulis, A., Blumenfeld, H., 2021. Decreased A. Lüttjohann and G. van Luijtelaar. Decreased overall neuronal activity in a rodent model of impaired consciousness during absence seizures. *Epilepsy Curr*, 4: 262-271.

Meeren, H., van Luijtelaar, G., Lopez, F., y Coenen, A. (2005). Envolving conceptson the pathophysiology of absence seizures. *Arch. Neurol.* **62**: 371-376.

Morales, A., Robles, G. y Díaz, V. (2007). Las hormonas esteroides y el páncreas: Un nuevo paradigma. *Rev Inv Clinica*, **2**: 124-129.

Muñoz, L., Eguibar, J., Cortés, C., Ugarte, A. y Trujillo, A. (2018). Follicular Development and Secretion of Ovarian Hormones during the Juvenile and Adult Reproductive Lives of the Melin Mutant *taiep* Rat: An Animal Model od Demyelinating Diseases. *Int J Endocrinol*: 11.

Navarrete, R., Garcia J., Pardo, M., Jiménez, P. y López A. (2009). Testosterona, función endotelial, salud cardiovascular y androgenoeficiencia del varón. *Arch. Esp. Urol.* **3**: 173-178.

Nicolson, A., Chadwick, D. y Smith, D. (2004). A comparison of adult onset and “classical” idiopathic generalized epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, **75**: 72-74.

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

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2022. Epilepsia. Un imperativo de salud pública. Recuperado de: https://www.who.int/mental_health/neurology/epilepsy/report_2019/en.

Parera, L., Azcona, C., Barreiro, J., Bermúdez, J., Carcavilla, A., Castaño, L., Martos, T., Rodríguez, A., Yeste, D., Martínez, L., Martínez-Urrutia, M., Mora, C., Guerrero-Fernandez, J. (2019). Anomalías del desarrollo sexual. Desarrollo sexual diferente. *Asociación Española de Pediatría*, **1**:1-19.

Pennell, P. (2009). Hormonal Aspects of Epilepsy. *Neurol Clin*, **24**: 941-967.

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

Purves, D. (2020). Transmisión sináptica. En: *Neuroscience*. New York: Oxford University Press: 127-138.

Qian, H. y Ripps, H. (2009). Focus on Molecules: The GABA (C) Receptor. *Experimental Eye Research*, **88**: 1002-1003.

Reddy, D. (2004) Testosterone modulation of absence seizure susceptibility is mediated by neurosteroids 3 α – androstanediol and 17 β -estradiol. *Neuroscience*, **129**: 195-207.

Reddy, D. (2010). Role of anticonvulsant and antiepileptogenic neurosteroids in the pathophysiology and treatment of epilepsy. *Frontiers in Endocrinology*, **2**:1–11.

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

Rodríguez, S., Terry, J. y Breakspear, M. (2006). On the genesis of spike-wave activity in a mean-field model of thalamic and cortico-thalamic dynamics. *Phys Lett*, **355**: 352-357.

Rouiller, V., Gangnerau, M., Vayssiere, J. y Picon, R. (1990). Cholesterol side-chain cleavage activity in rat fetal gonads a limiting step for ovarian steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, **72**: 110-20.

Sacher, J., Neumann, J., Okon-Singer, H., Gotowiec, S. y Villringer, A. (2012). Sexual dimorphism in the human brain: evidence from neuroimaging. *Magnetic Resonance Imaging*, **31**: 366-375.

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

Scheffer, I., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M., French, J., Guilhoto, L., Secretaría de Salud. (2019). ISSSTE trabaja a favor de la inclusión social de 2.5 millones de mexicanos que padecen epilepsia. Secretaria de Salud. Recuperado el 3 de mayo de 2022, de: <https://www.gob.mx/issste/prensa/el-issste-trabaja-a-favor-de-la-inclusion-social-de-los-2-5-millones-de-mexicanos-que-padecen-epilepsia?idiom=es-MX>.

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.

Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G., Moshe, S., Nordi, D., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y., y Zuberi, S. (2017). *EPILEPSIA*, **58** (4): 512-521.

Tachdjian, G. (2017). Anomalías de la diferenciación sexual. *EMC-Ginecología-Obstetricia*, **20**: 1-11.

Taubøll, E., Sveberg, L. y Svalheim, S. (2015). Interactions between hormones and epilepsy. *Seizure*, **28**: 3-11.

Tolmancheva, E. y Van Luijtelaar, G. (2007). The role of ovarian steroid hormones in the regulation of basal stress induced absence seizures. (2007). *J Steroid Biochem Mol Biol*, **104**: 281-288.

Tolmancheva, E., Chepurnov, S., Chepurnova, N., Kochetkov, Y. y Luijtelaar, G. (2004). Absence seizures during pregnancy in WAG/Rij rats. *Physiology & Behavior*, **81**: 623-627.

Travé, D. y Yoldi, P. (2006). Ausencias típicas: características epidemiológicas, clínicas y evolutivas. *Anales de Pediatría*, **64**: 28-33.

Twyman, R. y Macdonald, R. (1992). Neurosteroid regulation of GABA_A receptor single-channel kinetic properties of mouse spinal cord neurons in culture. *J Physiol*, **45**: 215-227.

- Valdés-Galván, R., González-Calderón, G y Castro-Martínez, E. (2019). Epidemiología del descontrol de la epilepsia en un servicio de urgencias neurológicas. *Rev Neurol*, **68**: 321-325.
- Valverde, J., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M. y Valero, D. (2021). Preharvest Use of γ -Aminobutyric Acid (GABA) as an Innovative Treatment to Enhance Yield and Quality. *Horticulturae*, **9**: 23.
- Van Luijtelaar, G., Yilmaz, F. y Gallagher, J. (2014): Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex hormones matter?. *Neurobiol Dis.* **72**: 167-179.
- Van Luijtelaar, G., Budziszewska, B., y Tolmacheva, E. (2009). Hormones and absence epilepsy. *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research*, **1**: 488-495.
- Van Luijtelaar G, Sitnikova E, Lüttjohann A. (2011). On the origin and suddenness onset of absences in genetic absence models. *Clin. EEG Neurosci.* **42**:83–97.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, A., Depaulis, A., Rumbach, L., Warter, J.M. (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neuroscience Letter.*, **33**: 97-101.
- Velíšková, J. y DeSantis, K. (2012). Sex and Hormonal influences on Seizures and Epilepsy. *Horm Behav*, **63**: 267-277.
- Verrotti, A., Manco, L., De Simone, M., y Chiarelli, F. (2007). Influence of sex hormones on brain excitability and epilepsy. *J Endocrinol Invest*, **30**: 797-803.
- Wang, M. (2011). Neurosteroids and GABA-A receptor function. *Frontiers in Endocrinology*, **2**: 1-23.
- Winter, J., Hugues, I., Reyes, F. y Faiman, C. (1976). Pituitary-Gonadal Relations in Infancy: 2 Patterns of Serum Gonadal Steroid Concentrations in Man from Birth to Two Years of Age. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **42**: 679-686.
- Williams, J. (2004). Seizure disorders. In R.T. Brown, *Handbook of pediatric psychology in school settings*, 221-239.
- Woolley, C., Schwartzkroin, O. (1998). Hormonal effects on the brain. *Epilepsia*, **39**: 2-8.