

1991-B

REG. No. 080541309

Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



"EFECTO DE LA 4-HIDROX., 4-ETIL, 4-FENIL,
BUTIRAMIDA (HEPB) SOBRE LA CONCENTRACION DE
CATECOLAMINAS EN EL CEREBRO DEL RATON ADULTO"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

MARIO IGNACIO ROMERO ORTEGA

GUADALAJARA, JALISCO 1991

DEDICATORIA:

A Martha, por su amor y apoyo incondicional.

A mis padres y hermanos.

Al M.en C. Carlos Beas Zárate por su asesoría y dirección.

A todos aquellos quienes coincidiendo en tiempo y espacio, dejaron experiencias invaluableles que hoy norman mi proceder. Particularmente a:

Javier, por el significado que tiene para él la amistad.

Alicia y Saúl, a quienes debo apoyo y aliento familiar.

Luis Carlos, por creer en la labor de equipo, por su ejemplo.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
Agradecimientos.	1
Lista de Abreviaturas.	2
Resumen.	3
I.- INTRODUCCION.	4
II.- ANTECEDENTES	
1.-La primera generación de anticonvulsivos en México.	7
2.-Mecanismos de acción de algunos anticonvulsionantes.	12
III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	16
IV.- HIPOTESIS.	17
V.- OBJETIVOS.	18
VI.- MATERIAL Y METODOS.	19
VII.- DISEÑO EXPERIMENTAL.	21
VIII.- RESULTADOS.	22
IX.- DISCUSION.	25
X.- CONCLUSIONES.	28
XI.- BIBLIOGRAFIA.	29
XII.- FIGURAS.	34

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fué realizado en el Laboratorio de Neuroquímica del Departamento de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección y asesoría del M. en C. Carlos Beas Zárate, a quién hago patente mi gratitud y admiración.

Es parte de un proyecto en colaboración que se lleva a cabo en el CINVESTAV- IPN, denominado "Fármacos antiepilépticos: Estudios preclínicos de seguridad y eficacia." Apoyado por CONACyT con la clave P219CCOL880401, a cargo de la Dra. Dalila Martínez de Muñoz del Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, a quién agradezco su constante preocupación en relación al avance y operatividad de éste proyecto, así como sus valiosos comentarios en el transcurso del mismo.

LISTA DE ABREVIATURAS

Bm β x	Unión de moléculas ligando a receptores
CA	Catecolaminas
Ca ⁺⁺	Calcio
CLAR	Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
DA	Dopamina
DHBA	Dihidroxibenzilamina
DFH	Difenilhidantoína.
GEPR	Ratas génicamente predispuestas a presentar crisis convulsivas
HCl	Ac. Clorhídrico
HClO ₄	Ac. Perclórico
HEPA	4-hidroxi,4-etil,4-fenil acetamida
HEPB	4-hidroxi,4-etil,4-fenil butiramida
HEPP	4-hidroxi,4-etil,4-fenil propionamida
HMPB	4-hidroxi,4-metil,4-fenil butiramida
HDPB	4-hidroxi, 4-difenil butiramida
5-HT	5-hidroxitriptamina
K _d	Constante de diasociación para receptores
NE	Norepinefrina
PGE-400	Polietilenglicol 400
PROPGL	Propilenglicol
PTZ	Pentilentetrazol
SNC	Sistema nervioso central
SSF	Solución salina fisiológica

RESUMEN:

Diversos estudios farmacológicos, bioquímicos y fisiológicos han demostrado la participación de las catecolaminas (CA), norepinefrina y dopamina en la regulación del umbral convulsivo en diferentes modelos de estudio de la epilepsia experimental. Además se ha descrito que parte del mecanismo de acción de algunos anticonvulsivos como la difenilhidantoína, clordiazepóxido, diazepam, etc., es a través de modular la neurotransmisión CAérgica. En ésta forma, en México se han sintetizado una serie de compuestos derivados de las butiramidas, los cuales han demostrado una marcada actividad anticonvulsiva en animales de experimentación.

En el presente trabajo de tesis se realizaron algunos experimentos para conocer el efecto del HEPB a diferentes dosis, sobre la concentración de NE y DA en la corteza cerebral, cuerpo estriado e hipocampo en el ratón adulto. La cuantificación se realizó por cromatografía de líquidos de alta resolución con detección electroquímica.

Los resultados muestran un importante incremento en los niveles de NE de 65% y de DA de 120% principalmente en el cuerpo estriado, inducido por la administración del HEPB a una dosis de 20 mg/kg de peso, después de 60 min. Además se reporta el efecto inducido únicamente por el polietilenglicol-400.

Los resultados indican que parte del mecanismo de acción del HEPB como anticonvulsivo se explica en la inducción al incremento en los niveles de CA cerebrales.

INTRODUCCION

En 1973 la liga Internacional contra la Epilepsia y la Organización Mundial de la Salud definieron a la Epilepsia como una afección crónica, de etiología diversa, caracterizada por crisis recurrentes, debidas a una descarga de neuronas cerebrales (crisis epilepticas) asociadas eventualmente con diversas manifestaciones clínicas y paraclínicas (33).

Se trata de un trastorno neurológico considerado como uno de los grandes problemas de la humanidad desde tiempos Hipocráticos, debido a su alta prevalencia mundial que actualmente alcanza el 5% y que inhabilita a un gran número de personas, con consecuentes repercusiones médicas, sociales y económicas (2,25).

La evolución histórica del conocimiento que el hombre tiene de la Epilepsia, así como de los tratamientos para combatirla, ha sido un proceso lento, entorpecido por la ignorancia y superstición religiosa, que la han relacionado con orígenes sobrenaturales y dogmas de incurabilidad y degeneración, es hasta a mediados del siglo XX que se amplía el campo de la investigación científica incorporandose la farmacología, farmacoterapia, neurocirugía y neuroendocrinología a la terapéutica para la epilepsia.

Puede decirse que el tratamiento médico comenzó en 1857 con la introducción de los bromuros por Charles Locock, seguida por el luminal y la síntesis de la difenilhidantoína (36), hasta 1985 se conocían alrededor de 20 fármacos anticonvulsivos clasificados en dos grandes grupos; los que resultan efectivos contra crisis inducidas por electrochoque, utilizados para el tratamiento de convulsiones generalizadas tónico-clónicas y aquellas que impiden las crisis provocadas por el pentilentetrazol (PTZ) del tipo de ausencias (25,40).

No obstante los considerables avances en cuanto a la efectividad y diversidad de los fármacos anticonvulsivos y del adelanto en el entendimiento de las bases neurofisiológicas de la excitación del sistema nervioso central (S.N.C), no se han podido esclarecer en su totalidad los mecanismos de acción bioquímica de éstos compuestos y consecuentemente sintetizar fármacos específicos que eviten al máximo los efectos colaterales indeseables y que tengan un espectro de amplia acción antiepiléptica.

Guillermo Carbajal en 1964 fué el primero en nuestro país en sintetizar una serie de fármacos derivados de la 2-pirrolidinona, entre ellos la 4-hidroxi,4-fenil,4-etil, butiramida (HEPB) que al ser valorada experimentalmente ha demostrado un amplio espectro de acción anticonvulsiva similar al Fenobarbital y al Valproato, lo cual lo sitúa al igual que sus homólogos (HEPA y HEPP) como Antiepilépticos mayores, muy útiles para controlar las crisis convulsivas aún antes de establecer con precisión el diagnóstico diferencial (35).

El HEPB fué sintetizado específicamente para reforzar la acción inhibitoria del neurotransmisor Acido γ -aminobutírico (GABA), a fin de apoyar el restablecimiento del equilibrio ante una excesiva y repetitiva acción de neurotransmisores excitatorios que sostienen las crisis convulsivas, Sin embargo, estudios posteriores demostraron que el sistema GABAérgico no es modificado por el HEPB (25). Sin embargo más recientemente se ha demostrado que el HEPB reduce la unión de agonistas a benzodiazepina con su polireceptor a GABA (22), lo cual involucra al sistema GABAérgico como posible mecanismo de acción de éste fármaco. Por otra parte, se ha demostrado que el sistema de neurotransmisión catecolaminérgico, participa en algunos modelos de epilepsia experimental como mediador del efecto anticonvulsivo (6). Por lo

que resulta importante realizar estudios encaminados a conocer con mayor precisión el mecanismo de acción del HEPB y determinar el efecto que pudiera poseer sobre sistemas catecolaminérgicos, lo anterior basado en la similitud estereoquímica que muestra con respecto a la norepinefrina (Pérez de la Mora y Tapia en '4).

ANTECEDENTES

1.1 LA PRIMERA GENERACION DE ANTICONVULSIVOS EN MEXICO.

Los medicamentos empleados en el tratamiento de la epilepsia fueron descubiertos en su mayoría por observaciones clínicas de los efectos secundarios de algunos compuestos utilizados con otro propósito o por azar (4,33). En nuestro país Guillermo Carbajal fundamentó su trabajo en un amplio estudio de los compuestos anticonvulsivos, del cual podemos destacar tres de sus principales directrices:

a).-Estableció relaciones comparativas entre la estructura y la actividad de los distintos compuestos anticonvulsivos y estableció una estructura común en 27 de ellos, se trata de una acetamida trisustituida donde los sustituyentes son en todos los casos grupos hidrofóbicos, de los cuales parece existir una mayor potencialidad anticonvulsiva entre los grupos etilo y fenilo, que en otros grupos químicos.

b).-Previamente se demostró que en algunos estados convulsivos se encuentra alterada la síntesis del GABA (Roberts, 1960 en 4), y que la administración de dosis altas del mismo, induce una clara actividad anticonvulsionante.

c).-También se demostró que la principal vía catabólica del GABA es su transaminación para formar el ácido α -cetoglutarico, a través de la GABA transaminasa, y que la inhibición de tal enzima produce un aumento en los niveles de GABA con un consecuente efecto anticonvulsivo.

En base a lo anterior Carbajal diseñó compuestos que actuarían como sustitutos del GABA (4), con una mayor solubilidad en los lípidos que determinaría el paso de estas moléculas a través de la barrera hematoencefálica. Tales grupos estarían sustituidos en posición gamma, hecho que evita la acción de la GABA transaminasa sobre ellos, confiriéndoles mayor estabilidad, además de que los grupos sustituyentes serían los que se presentan en común con los anticonvulsivos más potentes. (en el caso del HEPB son el fenilo y el etilo.)

Los compuestos que forman parte de esta primera generación de anticonvulsivos en México son: HEPB, HMPB Y HPPB (Fig.1). Cabe mencionar que éste es un ejemplo de como la información y los conceptos de investigación sobre los neurotransmisores y la epilepsia, son sistemáticamente utilizados para intentar desarrollar nuevas drogas antiepilépticas.

Castro-Sánchez desde 1964 resaltó que estos compuestos presentan efectos farmacológicos importantes como anticonvulsivos, Pérez de la Mora y Tapia en 1973 demostraron que el HEPB inhibe las convulsiones y protege contra la muerte provocada por la bicuculina (antagonista a GABA), postulando la probable acción GABAmimética del HEPB (4).

Lo anterior marcó la pauta de las primeras investigaciones en relación al posible mecanismo de acción del HEPB, pero el resultado de las mismas parece indicar que el sistema GABAérgico no esta involucrado con este mecanismo, ya que estudios in vivo han demostrado que presentan poca inhibición sobre la GABA-transaminasa y que la administración crónica no altera la concentración de GABA, ni se modifica la captación de alta afinidad de éste (25).

Actualmente se ha demostrado la eficacia anticonvulsiva del HEPB contra crisis inducidas por PTZ y electrochoque a dosis de

60-80 mg/Kg. (25), contra crisis provocadas por la estimulación eléctrica interactiva (modelo de Kindling), tanto en gatos como en ratas (39). También se ha probado que es a través de una modulación de la actividad GABAérgica, como lo es bajo el uso de la picrotoxina, (antagonista específico a receptores GABA) que el HEPB produce una franca disminución del número de espigas interictales (actividad epiléptica) inducidas por ésta (31).

En el modelo de epilepsia experimental denominado "Síndrome de abstinencia al GABA" que ha resultado sumamente resistente a los anticonvulsivos de uso clínico más común; Fenitoína, Barbitúricos, Etosuccimida, Valproato, Carbamazepina y Diazepam, el HEPP homólogo inferior de del HEPB, es el primer fármaco que logra disminuir la frecuencia de la actividad paroxística en los primeros minutos de su aparición (2), mientras que en el modelo de crisis convulsivas inducidas por abstinencia a Fenobarbital, se encontró una protección contra las crisis en un 50% mediada por el HEPP (22). Los estudios electrofisiológicos también demuestran una disminución en el número y la amplitud de espigas de las descargas paroxísticas, efecto que resultó ser dependiente de la dosis y del tiempo de aplicación del HEPB (31).

Por otro lado, existen numerosos estudios que claramente indican la importante participación de las catecolaminas; norepinefrina (NE) y dopamina (DA) en el proceso convulsivo, así se ha demostrado que en el ratón genéticamente predispuesto a convulsionar mediante estímulos auditivos, existe una deficiencia en la transmisión catecolaminérgica que puede contribuir a tal susceptibilidad, debido a que fármacos que reducen los niveles de éstos compuestos, facilitan las crisis convulsivas (6). En el gerbil mongólico con epilepsia espontánea se ha demostrado que un aumento en la concentración de DA ó la administración de agonistas a receptores Dopaminérgicos reducen las crisis convulsivas (21).

En ratas predispuestas génicamente a la epilepsia, se ha demostrado que el sistema catecolamiérgico regula la actividad convulsiva de estos roedores, ya que la severidad de las crisis se incrementa cuando se reduce la cantidad de NE neuronal, en tanto un aumento farmacológico de NE y de DA inducen una reducción en la severidad de las crisis. Datos más convincentes demuestran que la comparación en la concentración de NE en estos animales se encuentran disminuidas en un 60% en relación con roedores testigos, en regiones que incluyen hemisferios cerebrales, hipotálamo y cerebelo entre otras (18). Estudios realizados en éstos organismos demuestran que las deficiencias en NE y serotonina (5-HT), se encuentran aún antes de que se presenten las convulsiones, lo cual es una fuerte evidencia de que tales deficiencias son parte de las bases neuroquímicas del estado convulsivo característico en éste modelo (10).

El estudio de epilepsia experimental en aves ha demostrado que aquellas génicamente predispuestas muestran una disminución de los niveles de NE, en tanto la DA se encuentra ligeramente disminuida, sin embargo un incremento en la concentración de DA no reduce la susceptibilidad de las crisis, lo cual permite pensar que tal sistema no está involucrado en la etiología de las crisis en este modelo de estudio (14). En tanto que al evaluar la tasa de degradación de NE, se encontró una reducción significativa, lo cual es congruente con la hipótesis de que un decremento en la transmisión sináptica da como resultado un incremento en la susceptibilidad a las crisis.

El fenómeno de Kindlig es aquel en el cual la administración repetitiva de estímulos eléctricos subconvulsivos dan como resultado un incremento en la actividad convulsiva culminando en crisis generalizadas. En éste modelo la depleción de NE, por lesión a fibras noradrenérgicas inducida farmacológicamente facilita dramáticamente el desarrollo del kindlig. Lo anterior no se observa en la manipulación farmacológica con la DA (21).

Existen evidencias histoquímicas de una modesta reducción en la densidad de terminales noradrenérgicas en modelos de epilepsia inducidos por la aplicación directa de agentes químicos (cobalto, crema de alúmina) en la corteza cerebral (8). Por otro lado, algunos aminoácidos tales como el glutamato, aspartato y algunos derivados, presentan propiedades significativamente convulsivas (12). Beas-Zárate y col., en 1985 demostraron una reducción en los niveles de NE y DA cerebrales en el modelo de crisis inducidas con administración intraperitoneal de glutamato monosódico tanto en el periodo preconvulsivo como durante las convulsiones, y sugieren que los cambios encontrados en los niveles de catecolaminas endógenas en el cerebro puede estar relacionado con la fisiología convulsiva en este modelo (1).

No hay duda de que la NE atenúa las convulsiones en casi todos los modelos de epilepsia experimental disponibles y tal efecto parece ser más marcado en los modelos genéticos de epilepsia y de alguna manera parece ser menos obvio cuando se intenta evaluar su función en animales normales que reciben estímulos supramáximos inductores de crisis. La 6-hidroxidopamina (neurotóxico de neuronas catecolaminérgicas) ha demostrado reducir la efectividad de varios anticonvulsionantes como el fenobarbital, fentofina, acetazolamida y carbamazepina en ratas (3). En el modelo de electrochoque el umbral convulsivo es reducido en ratones en donde se ha depletado la NE, pero es importante notar que este mismo mecanismo en ratas no parece modificar el proceso convulsivo. El papel de la DA se presenta confuso y poco estudiado en este modelo (3). La depleción de NE incrementa la duración e intensidad de las crisis inducidas por PTZ, y un incremento en los niveles de NE y DA elevan el umbral convulsivo de éste compuesto (11).

En algunos estudios llevados a cabo en la corteza temporal en humanos epilépticos extraída quirúrgicamente de pacientes cuyas convulsiones eran intratables a los anticonvulsivos disponibles, se

ha encontrado un aumento en la actividad de la tirosina hidroxilasa y los receptores adrenérgicos se encuentran poco regulados. Asimismo, se ha demostrado que la DA , 5-HT y sus metabolitos se encuentran en concentraciones elevadas en la corteza convulsiva, lo que sugiere un incremento en la síntesis y liberación de éstos neurotransmisores (32).

Luego de 30 años de investigación se puede concluir que la NE y el GABA son los neurotransmisores de más influencia en la modulación de la susceptibilidad e intensidad de las crisis, convulsivas, en tanto que la DA no está claramente relacionada con la regulación de las mismas, a excepción del gerbil genéticamente predisuesto a convulsionar, donde se ha comprobado que un aumento en la concentración de DA inhibe las crisis en éste organismo, (Cox y Lomax, 1978 en 24). No obstante lo anterior debemos de aceptar que las convulsiones en varios modelos de epilepsia experimental en animales no son reguladas por el mismo sistema de neurotransmisores (9).

1.2 MECANISMO DE ACCION DE ALGUNOS ANTICONVULSIONANTES

Un anticonvulsivo es aquel fármaco que disminuye o previene la presentación de un ataque epiléptico, sin producir depresión en el sistema nervioso central (SNC) (3). éstos fármacos ayudan ya sea a deprimir la excitación neuronal o a modular la transmisión sináptica. A continuación se enlistan algunos de los posibles mecanismos de acción de los compuestos anticonvulsivos (10):

- a).-Activación de procesos antagónicos a la acción de los fenómenos que se producen durante las convulsiones.
- b).-Reversión de los fenómenos que inducen a la crisis.
- c).-Bloqueo del desarrollo de los fenómenos que se activan durante la inducción de las crisis.

De esta manera se enlistan una serie de fármacos anticonvulsivos de uso común en la clínica, así como lo que actualmente se conoce en relación a su probable mecanismo de acción:

Difenilhidantoína (DFH): Es un ácido orgánico débil soluble en soluciones alcalinas. Puttman y Merrit en 1937 descubrieron su actividad anticonvulsiva contra crisis inducidas por electrochoque. Alcanza su concentración terapéutica de 10-20 mg/ml de plasma luego de 4-12 h. de su administración. Se ha demostrado que bloquea canales de sodio (Na) en reposo, que ayuda a incrementar el umbral de excitación e inhibe numerosas secreciones hormonales y de neurotransmisores dependientes de Ca⁺⁺, lo que sugiere que el efecto anticonvulsivo lo podría lograr inhibiendo la liberación de neurotransmisores excitatorios al espacio intersináptico (12,25). Se sabe también que la DFH no afecta los niveles de GABA cerebrales (14), y que deprime la acción postsináptica de la acetilcolina (19).

Fenobarbital: En 1912 fué descubierto por Alfred Haupman como potente antiepiléptico, pero con acción sedante intensa. Se administra generalmente a dosis de 1-20 mg/kg alcanzando los máximos niveles en plasma después de 8-12 h. Este fármaco tiende a deprimir las excitaciones fisiológicas y aumentar los procesos inhibitorios, probablemente mediante la activación de receptores al GABA, ya que se ha demostrado que los barbitúricos pueden aumentar la unión de GABA a su receptor hasta en un 100 %, sin embargo actualmente no se conoce cabalmente el mecanismo de acción de éste fármaco (12,14).

Carbamazepina: Su efecto anticonvulsivo fué descrito desde 1963. Es útil en epilepsia parcial compleja y de tipo generalizada, pero no parece serlo en el tratamiento de epilepsia de tipo ausencias, después de una dosis oral de 200 mg/kg, alcanza su nivel máximo en plasma luego de 32 h.

Se sabe que disminuye el umbral de estimulación de nervios periféricos (26), se ha propuesto que actúa a través del sistema CAérgico y específicamente modifica la liberación de NE, ya que en ratas pretratadas con 6-hidroxidopamina, (fármaco que degenera selectivamente las terminales catecolaminérgicas en el SNC) se inhibe la acción anticonvulsiva de la carbamazapina (Wada y col., 1976, en 26).

Benzodiazepinas: Utilizadas desde 1959 como agentes psicoterapéuticos se definen en 1970 como el fármaco de elección para el manejo del "status epiléptico". Es muy efectivo contra las crisis inducidas con pentilentetrazol (PTZ) y poco menos contra convulsiones producidas por electrochoque, protegen también contra crisis inducidas mediante la administración de estriquina y picrotoxina. Además, se ha demostrado que son clínicamente útiles en el tratamiento de crisis generalizadas de tipo ausencias y convulsiones clínicas y mioclónicas. La máxima concentración en plasma se alcanza de 1-2 h. después de su administración. Las benzodiazepinas disminuyen el recambio de catecolaminas cerebrales (26), y aumentan las concentraciones de acetilcolina, sin embargo es posible que estos dos efectos sean secundarios respecto a aquel sobre el sistema GABAérgico, donde numerosos trabajos sugieren que su acción anticonvulsiva se basa en su capacidad para mimetizar el GABA o para aumentar la capacidad del mismo (Olsen y Lunberg, 1982, en 26).

Este fármaco parece actuar en la reducción de la tasa de degradación de la NE cuando son inyectadas en ratas en estado de estres. En sí mismo el estres aumenta la degradación de NE y disminuye la de DA. (30)

Valproato de Sodio: Se introdujo a la terapéutica entre 1962-1978, resultó ser muy efectivo para bloquear convulsiones inducidas por PTZ y su aplicación beneficia sobre todo a la epilepsia del tipo de ausencias. Presenta un amplio espectro anticonvulsivo, pero su efectividad se manifiesta sólo a dosis

altas (100-700 mg/kg), la concentración óptima en sangre se obtiene dentro de las primeras 12 h dependiendo de la forma de administración.

La hipótesis más aceptada acerca de su mecanismo de acción, propone que refuerza el efecto inhibitorio del GABA, probablemente mediante el aumento en los niveles de GABA cerebral, ya que inhibe sobre todo las enzimas que regulan el catabolismo de éste neurotransmisor. Recientemente Shephard, R.A. y col. (1990) resalta que existe poca evidencia para involucrar los receptores GABA y postula que el posible sitio de acción es a través del canal iónico de cloro que se encuentra asociado al complejo de receptor a GABA (37).

Etosuccimida: Es utilizado desde 1960 para el tratamiento contra la epilepsia de tipo ausencias y psicomotora. Los derivados de éste fármaco son efectivos bloqueadores de las convulsiones inducidas por PTZ y electrochoque, pero no ejerce ninguna acción contra las crisis generalizadas tónico-clónicas. Su nivel máximo en plasma se alcanza luego de 1-4 h después de administrar una dosis de 1 g/kg. Los estudios acerca de su mecanismo de acción son limitados y no permiten elucidar una posible vía de acción.

En general, aunque los efectos clínicos de éstos fármacos son bien definidos, los mecanismos de acción anticonvulsiva no están totalmente aclarados (5,23,28). Cabe mencionar que aún con la similitud estructural que existe entre muchos de los anticonvulsivos, éstos parecen tener múltiples mecanismos de acción de acuerdo a la efectividad selectiva a ciertos tipos de epilepsia (23).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Poco ha sido el avance en cuanto al estudio y síntesis de fármacos anticonvulsionantes para el tratamiento de la epilepsia en los últimos años a nivel mundial, en México Guillermo Carbajal ha sido el primer investigador en sintetizar un compuesto con propiedades anticonvulsivas de amplio espectro de acción y cuyos efectos secundarios y neurotoxicidad lo ubican como alternativa importante en el tratamiento de ésta afección.

En este contexto es importante hacer un amplio estudio sobre estos nuevos fármacos sintetizados en nuestro país a fin de fundamentar y apoyar su utilización clínica.

HIPOTESIS

Sí las catecolaminas participan en la regulación del umbral convulsivo, y el mecanismo de acción de algunos anticonvulsionantes es através de la modulación de neurotransmisores a nivel sináptico, luego entonces la 4-hidroxi,4-etil, 4-fenil, butiramida (HEPB) incrementa las concentraciones de catecolaminas como parte de su mecanismo de acción.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

OBJETIVOS

1.- Obtención de una curva Dosis Respuesta. Estudios in vivo.

A).- Determinar la concentracipn de NE y DA, 60 minutos después de la administración del HEPB a las dosis de 10, 20, 40 y 100 mg/kg en la corteza cerebral, cuerpo estriado e hipocampo

B).- Determinar la concentración de NE y DA en la corteza cerebral, cuerpo estriado e hipocampo, luego de la administración del HEPB a diferentes tiempos (30, 60, 90 y 120 minutos) a la dosis establecida en el objetivo anterior.

MATERIAL Y METODOS

Instrumentación: Para la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), se utilizó una bomba de Flujo constante modelo 501, un inyector manual U6K con una asa de muestra de 25 μ l, un detector electroquímico modelo 460 que trabajó en modo de oxidación y un integrador modelo 740 para registrar el perfil de elución, todo el equipo se adquirió en Watters Co. (Milford, M.H.), Se utilizó además una columna analítica de silicagel con empaque de 5 μ m de diámetro tipo C-18 para cromatografía de fase reversa. Los parámetros de cuantificación fueron los siguientes: velocidad de flujo del sistema de elución a 0.8 ml/min., sensibilidad del detector a 0.2 nA y un potencial de oxidación de 0.65 V.

Animales y tratamiento: Se utilizaron ratones hembras de la cepa Balb-c de 60 días de edad (17-25 g) en todos los experimentos. Los animales fueron alimentados con purina y con libre acceso al agua. Los grupos experimentales se les administró HEPB vía intraperitoneal, disuelto en Polietilenglicol (PGE-400) al 10% en solución salina fisiológica (SSF). En los grupos controles solo fue omitido el HEPB, así mismo se tomaron grupos testigos administrados unicamente con SSF y un grupo testigo sin ningún tipo de inyección.

Extracción de catecolaminas: Los ratones fueron sacrificados por decapitación; la corteza cerebral, cuerpo estriado e hipocampo, se disecaron sobre hielo y se homogenizaron en HClO₄ 0.1 N, fueron centrifugados para obtener la fracción libre de proteínas, misma que se sometió al proceso de adsorción de catecolaminas en Alúmina activada (29), donde se le adicionaron 5 ng. de dihidroxibenzilamina (DHBA) como estandar interno, finalmente las catecolaminas fueron eluidas en HClO₄ 0.1 N y filtradas con poro de 0.22 μ m para ser analizadas por CLAR.

Fase móvil: Los reactivos utilizados fueron los siguientes: DA, NE, DHBA (Dihidroxibenzilamina), TRISMA (Sigma, St. Luis, USA.). NaH_2PO_4 , HClO_4 , CH_3OH , HCl , H_3PO_4 , (Merck, México). EDTA (Harleco, México).

El sistema de elución se preparó con un amortiguador de Na_2HPO_4 0.1 M, EDTA 0.1 mM, Ac Octanosulfónico sódico 2 mM y 3% de Metanol, el pH final se ajustó a 3.79 con ac. Fosfórico a la temperatura ambiente (30). La solución se filtró con poro de 0.22 de μm y fué degasificada para una mejor estabilidad en la línea basal.

Expresión de resultados y estadística: Los cromatogramas fueron revisados para evaluar el proceso de integración y los datos obtenidos fueron almacenados en una hoja electrónica (Lotus 123), para su posterior manejo, el análisis estadístico comprendió el promedio y desviación estandar de los datos, que fué realizado por medio del Lotus 123, la diferencia entre las medias experimentales y testigos se realizó mediante una prueba "t" de Student de dos colas, la graficación de éstos se realizó utilizando el graficador "Harvard Print Graphics" y los resultados se expresan en nanogramos (ng) de catecolaminas por miligramo (mg) de tejido.

DISEÑO EXPERIMENTAL

RATONES HEMBRAS BALB-C DE 60 DIAS DE EDAD

GPO. S.S.F. (N=4)

GPO. CONTROL

GPO. EXPERIMENTAL

S.S.F. + PEG-400 (N=4)

S.S.F. +PGE+ HEPB (N=6)

TRATAMIENTO CON HEPB A DIFERENTES CONCENTRACIONES

10 MG/KG

20 MG/KG

40 MG/KG

100 MG/KG

TRATAMIENTO CON HEPB A LA DOSIS DE MAXIMA ACCION A DIFERENTES TIEMPOS

30 MIN.

60 MIN.

90 MIN.

120 MIN.

TRATAMIENTO CON HEPB EN PROPLA A DIFERENTES CONCENTRACIONES

10 MG/KG

20 MG/KG

40 MG/KG

SACRIFICIO POR DECAPITACION

DISECCION DE LA CORTEZA CEREBRAL, ESTRIADO E HIPOCAMPO

EXTRACION DE CATECOLAMINAS CON ALUMINA ACTIVADA

CUANTIFICACION DE DA Y NE POR CLAR/DE

RESULTADOS

En todos los experimentos realizados se calculó el porcentaje de recuperación para el método de extracción de catecolaminas por adsorción cromatográfica en alúmina activada, a fin de evaluar la continuidad de ésta técnica. En la figura No. 2 se muestran los promedios de recuperación para cada una de las regiones estudiadas donde los resultados coinciden con lo comunmente reportado para esta técnica (29).

En corteza cerebral e hipocampo El HEPB no modifica significativamente las concentraciones de NE con respecto a su control de PEG-400 a ninguna de las dosis probadas. Sin embargo, el vehículo sí es capaz de inducir un incremento sobre los niveles de NE en éstas regiones hasta de un 100% con respecto a su control de SSF (Fig.3). En el cuerpo estriado se observa un incremento del 65% ($p < 0.01$) inducido por el HEPB a una dosis de 20 mg/kg de peso con respecto a su control de PEG-400. Sin embargo éste vehículo también induce por sí mismo un incremento hasta de un 100% respecto a su control de SSF (Fig. 3).

A la dosis de 20 mg/kg de peso corporal el HEPB induce incrementos en los niveles de DA en todas las regiones estudiadas. Así, en la corteza cerebral se observa un incremento del 100% ($p < 0.01$) respecto a su control con el vehículo PEG-400. Sin embargo el vehículo induce un incremento del 150% en los niveles de DA en comparación con los animales tratados únicamente con SSF. En hipocampo el HEPB induce un incremento del 85% ($p < 0.01$) con respecto a su control con PEG-400 y también se observan incrementos inducidos por el vehículo de un 200% con respecto a su testigo con SSF. En el cuerpo estriado el HEPB induce un incremento del 120% ($p < 0.01$) en la concentración de DA. En ésta región el PEG-400 no modifica significativamente los niveles de éste neurotransmisor (Fig.4).

En vista de que el polietilenglicol-400 inicialmente utilizado como vehículo, produjo cambios substanciales en la concentración de catecolaminas (CA) NE y DA en las diferentes regiones estudiadas del sistema nervioso central, éste hecho no permitió establecer en forma clara algún posible efecto del HEPB sobre la concentración de CA, por lo que se probó otro vehículo como es el propilenglicol (PROPGL), el cual y a pesar de que también produjo algunos cambios en la concentración de CA en las diferentes regiones estudiadas, éstos no fueron tan significativos como con el primer vehículo.

Después de la administración del HEPB a las diferentes dosis administradas los resultados muestran un incremento significativo en la concentración de norepinefrina (NE) en el estriado a la dosis de 20 mg/Kg de peso corporal en un 75% en comparación con el grupo testigo administrado con PROPGL (Fig.5). Mientras que en la corteza cerebral y en el hipocampo no se encontró ninguna diferencia significativa respecto a los grupos testigo correspondientes.

Por otro lado, en la concentración de DA no se encontró diferencias significativas en la corteza cerebral ni en el estriado, aunque es de notar una tendencia al incremento que se observa en el cuerpo estriado a la dosis de 20 mg/kg de peso corporal, en el hipocampo, los niveles de DA no fueron determinados (Fig.6).

En base a que la dosis de 20 mg/Kg es la que induce un cambio en la concentración de CA, ésta misma dosis fué utilizada para determinar el tiempo en el cual el HEPB produce el máximo efecto sobre la concentración de CA. En éste sentido se observó que en la corteza cerebral el HEPB produce un incremento significativo en los niveles de NE a los 90 min. de un 50% comparado con su control de PEG-400, en tanto que en hipocampo y cuerpo estriado se alcanza el máximo incremento a los 60 min. (Figura 7).

La concentración de DA en corteza cerebral bajo el efecto del HEPB a ésta dosis alcanza un máximo efecto a los 60 min. al inducir un incremento del 200% respecto a los testigos de PEG-400, con una reducción significativa de un 50% después de los 120 min. de la administración. En hipocampo el HEPB también induce un incremento máximo de un 100% a los 60 min. En tanto que en el cuerpo estriado no se observaron variaciones significativas de los niveles de DA en ninguno de los tiempos probados (Figura 8).

DISCUSION

Los resultados muestran que el HEPB incrementa la concentración de CA principalmente en el cuerpo estriado, a la dosis de 20 mg/Kg, (Fig. 4). Estos resultados estan de acuerdo con trabajos previos en donde se ha demostrado que la manipulación farmacológica del sistema CAérgico participa en forma importante en la regulación del umbral convulsivo en algunos modelos de estudio de la epilepsia experimental (6,18,20,21), así como en el mecanismo de acción de algunos anticonvulsionantes, el cual se orienta hacia la modulación de ciertos neurotransmisores a nivel sináptico (3,21).

Por otro lado, en trabajos previos se ha demostrado que el HEPB induce un efecto anticonvulsionante entre las dosis de 20 y 30 mg/Kg, hecho que corresponde al obtenido en el presente trabajo. De ésta forma, también se ha demostrado que el derivado de la butiramidas, HEPP no induce ningún cambio en la unión de NE, DA y serotonina (K_d y B_{max}) a sus receptores correspondientes (Chávez y Martínez de M.), éste hecho no implica necesariamente que un cambio en la concentración de CA deba de inducir una modificación en la cinética del complejo neurotransmisor-receptor CAérgico, ya que se conoce que pese a la gran deficiencia en los niveles de NE que muestran las ratas genéticamente predispuestas a la epilepsia (GEPR), éstas no muestran diferencias significativas en la cinética de unión de éste neurotransmisor con su adrenoreceptor alpha 1 (Ko et al, 1984 en 41). El cambio que se observa en la concentración de NE inducido por HEPB es proporcionalmente menor al 100% y en un tiempo relativamente corto (menor a 90 min), ambos parámetros pueden ser amortiguados facilmente por los mecanismos fisiológicos en condiciones normales. En éste sentido, los presentes resultados sugieren en primera instancia, que el principal efecto del HEPB puede darse en forma directa a nivel del elemento presináptico de

tipo catecolaminérgico. De tal manera que el efecto del HEPP pudiera ser mediado por interacción con receptores a GABA tipo A los cuales parecen regular la liberación de DA presinápticamente en el estriado (Chávez y Martínez de M), éste mecanismo podría explicar en alguna medida el incremento en los niveles de CA inducido por el GABA (Jim So Kim en 16).

La disminución en los niveles de CA que se observa a los 30 min. en corteza cerebral e hipocampo, puede explicarse en función de un efecto de estrés provocado por la inyección intraperitoneal, ya que observaciones previas en éste laboratorio han demostrado que el estrés induce una disminución del 60% en la concentración de NE, con una recuperación a los niveles basales después de 45 min (1). El incremento en los niveles de DA inducido por el HEPB recupera sus niveles basales después de los 90 min., lo anterior es congruente con lo encontrado por Brailowsky y Montiel (2), en donde el HEPP parece tener un efecto anticonvulsivo temprano en el Síndrome de Abstinencia al GABA, mismo que luego de 90 min. desaparece.

Si observamos el efecto del PEG-400 sobre los niveles de CA, éste induce un incremento de NE hasta de un 150% en relación con su control de SSF, lo cual evidencia que se trata de un vehículo no del todo inocuo, que evidentemente complica la interpretación de los resultados y resalta la importancia de tener más cuidado en la elección de los solventes a utilizar en este tipo de estudios.

En resumen con estos resultados es difícil conocer en su totalidad el posible mecanismo por el cual el HEPB modifica la concentración de NE y DA en el SNC particularmente en el estriado, para lo cual sería necesario continuar con estudios que muestren la actividad de las enzimas involucradas tanto en la síntesis, como en

la degradación de las CA. Estudios adicionales sobre la liberación de CA y la captura en la terminales presinápticas también complementarían aún más el conocimiento de la participación del sistema CAérgico en el mecanismo anticonvulsivo del HEPB.

CONCLUSIONES

a).-La curva dosis-respuesta muestra que el HEPB induce incrementos en los niveles de CA principalmente en el cuerpo estriado a la dosis de 20 mg/kg de peso corporal.

b).-El máximo incremento en los niveles de CA, que induce el HEPB se encontró entre los 60 y 90 min. después de su administración.

c).-Debe tenerse más cuidado en la elección de los vehículos a utilizar en estudios farmacocinéticos, dado que los efectos inducidos por éstos pueden dificultar la interpretación debido a sus efectos colaterales y/o cinérgicos.

d).-La participación del sistema CAérgico en el mecanismo de acción anticonvulsiva del HEPB, posiblemente se presente mediante un incremento de CA a nivel presináptico. Sin embargo se requieren de posteriores estudios que nos ayuden a comprender como es que el HEPB induce un incremento en los niveles de CA y en que proporción éstos incrementos facilitan el efecto anticonvulsivo del HEPB.

BIBLIOGRAFIA

1. Beas-Zárate, C., Arauz-Contreras, J., Velázquez, A. and Fera-Velasco, A. "Monosodium L-Glutamate-Induced Convulsions-II Changes in Catecholamine Concentrations in Various Brain Areas of Adult Rats" *Gen Farmacol.* 16: 489-493, 1985.
2. Brailowsky, S. y Montiel, T. "Efectos de la DL-Hidróxi-Etil-Fenil-Propionamida (HEPP) sobre un nuevo modelo de estatus epiléptico focal: el síndrome de abstinencia al GABA (SAG)." (En prensa). 1990.
3. Browning, R.A. "The role of Neurotransmitters in Electrochoque Seizures Models" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 277-311, 1987.
4. Carbajal, G. "Planeación de fármacos antiepilépticos" En: Velasco, F. y col. "Epilepsia, un enfoque multidisciplinario." Ed. Trillas. México. pp.193-208, 1986.
5. Chadwick, D. "Prospect for New Drug treatment in Epilepsy: a review." *Journal of the Royal Society of Medicine.* Vol. 83, pp.383-386, 1990.
6. Chapman, A.G. and Meldrum, B.S. "Epilepsy prone mice: genetically determined sound-induced seizures" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 9-29. 1987.
7. Chávez, J.L. y Martínez de Muñoz, D. "Mecanismo de acción del anticonvulsionante 3-Hidroxi, 3-Etil, 3-Fenil propionamida." En prensa.
8. Craig, Ch.R. and Colasanti, B.K. "Experimental Epilepsy Induced by Direct Topical Placement of Chemical Agents on the Cerebral Cortex" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 191-209. 1987.
9. Daley, J.W. and Jobe, P.C. "Neurotransmitter Systems and Epilepsy: an Overview." In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 1-6. 1987.

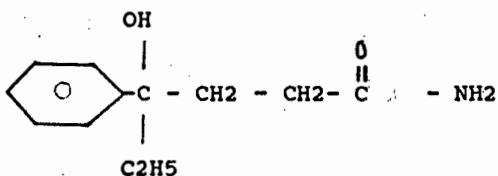
10. Daley, J.W., Reigel, CH. E., Mishra, P.K. and Jobe, P.C. "Neurobiology of Seizure Predisposition in the Genetically Epilepsy Prone Rat." *Epilepsy Res.*, 3. pp 3-17, 1989.
11. Doteuchi, M. and Costa, E. "Pentylentetrazol convultions and Brain Catecholamine turnover rate in rats and mice receiving diphenylhydantoin or benzodiazepines. *Neuropharmacology*. Vol.12, pp. 1059-1072, 1973.
12. Faingold, C.L. "Seizures Induced by Convulsant Drugs" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 215-276. 1987.
13. Jobe, C.P. and Laird, H.E. "Neurotransmitter Systems and the Epilepsy Models" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 339-362. 1987.
14. Jonhson, D.D. and Tucek, J.M. "The Epileptic Chickens" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 95-111. 1987.
15. Keller, R., Oke, A., Mefford, I. and Adams, R. "Liquid Chromatographic Analysis of Catecholamines Routine Assay for Regional brain Mapping." *Life Sciences* Vol. 19, pp. 995-1004. 1976.
16. Kim, J.S. "Transmitters for the Afferent and Efferent Systems of the Neostriatum and their possible Interactions." *Advances in Biochemical Psicopharmacology*, Vol. 19, edited by P.J. Roberts et al. Raven press, New York. pp. 217-233, 1978.
17. Kretch, M.J., Shaywitz, B.A., Shaywitz, S.E., Anderson, G.M., Leckman, J.L. and Cohen, D.J. " Neurotransmitters in Human Epilepsy" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 321-338. 1987.
18. Laird ll, H.E. and Jobe, P.C. "The Genetically Epilepsy Prone Rat." In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 57-89. 1987.
19. Lampe, H. and Bigalke, H.E. "Carbamazepine blocks NMDA activated currents in cultures spinal cord neurons." *Neuroreport 1 (Sampler)*. pp. 8-10, 1990.

20. Lim, C.K. "HPLC of small molecules" IRL Press, U.S.A. pp.333. 1986
21. Lomax, P. Randall, J.L. and Richard, W.O. "The Spontaneously Epileptic Mongolian Gerbil" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 41-54.1987.
22. López-Cortés, J.D. y Martínez de Muñoz, D. "Efecto de HEPP sobre convulsiones inducidas por abstinencia a Fenobarbital" (En prensa) 1990.
23. Macdonald, R.L., Mc Lean, M.J. and Skerritt, J.H. "Anticonvulsant mechanism of action" Federation proc. 44: pp. 2634-2639, 1985
24. McNamara, J.O. Bonhaus, D.W., Crain, B.J., Gellman, R.L. and Shin, C. "Biochemical and Pharmacologic Studies of Neurotransmitters in the kindling model" In Jobe, P.C. and Laird, H.E. "Neurotransmitters and Epilepsy" Humana Press, U.S.A. pp. 115-182, 1987.
25. Martínez de Muñoz, D. "El papel de los neurotransmisores en la epilepsia." En: "Aminoácidos y Péptidos en la integración de las funciones nerviosas." U.N.A.M. México. pp. 141-157, 1983.
26. Martínez de Muñoz, D. "Modo de acción de algunos fármacos antiepilépticos" En: Velasco, F. y col. "Epilepsia, un enfoque multidisciplinario." Ed. Trillas. México. pp.140-167, 1986.
27. Mazzacarratti, M.G.N., Amado, D. and Cavalheiro, E.A. "HPLC determination of Norepinephrine, 5-Hidroxitryptamine and 5-Hidroxitriptamine in rat brain using sodium dodecylsulphate as a ion pair." Brazilian J Med Biol Res. Vol. 23. pp. 255-262, 1991.
28. Méndez J.S., Cotzias, G.C., Mena, I. and Papavasilou, P.S. "Diphenylhydantoin." Arch Neurol. Vol. 32. pp.44-46, 1975
29. Musso, N.R., Vergassola, C., Pende, A. and Lotti, G. "Reverse-Phased HPLC Separation of Plasma Norepinephrine, Epinephrine, and Dopamine with three-electrode Coulorimetric Detection" Clin. Chem. Vol. 35, No. 9, pp.1975-1977, 1989.

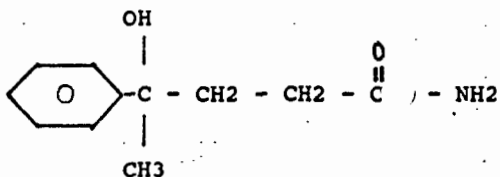
30. Nagaki, S., Nobumasa, K. Minatogagwa, Y. and Higushi, T. "Effects of Anticonvulsants and gamma-Aminobutyric acid (GABA)-mimetic drugs on Immunoreactive Somatostatin and GABA contents in the Rat Brain." *Life Sciences*, Vol.46, pp. 1587-1595, 1990.
31. Pacheco, M.F., Velasco, R. y Flores, A.M. "Efecto electrofisiológico comparativo de la HEPB y sus homólogos inferiores: HEPP y HEPA." (En prensa) 1990.
32. Pintor, M., Mefford, I.N., Hutter, I., Pocotte, S.L., Wyler, A.R. and Nadi, N.S. "Levels of Biogenic Amines, Their Metabolites, and Tyrosine Hidroxilase Activity in the Human Epileptic Temporal Cortex." *Synapse* 5: 152-156. 1990.
33. Rubio, F. "Generalidades y clasificación de la epilepsia" En: Velasco, F. y col. "Epilepsia, un enfoque multidisciplinario." Ed. Trillas. México. pp. 19-27. 1986.
34. Saligaut, C., Chretien, P., Daoust, M., Moore, N. and Boismare, F. "Dynamic Characteristics of Dopamine, Norepinephrine and Serotonin metabolism in axonal endings of the rat hipotalamus and Striatum during hypoxia: A studing using HPLC with electrochemical detection." *Meth and Find Exptl Clin Pharmacol*. Vol. 8. No. 6. pp. 343-349, 1986.
35. Sáschez, G., Javier, A.M., Martínez de Muñoz, D. y Carbajal, G. "Anticonvulsive profile and neurotoxicity of 4-hidroxy, 4-ethyl, 4-phenyl butyramide and two lower homologs in mice." *Epilepsia*. (En prensa). 1989.
36. Sandoval, M.E. y Aguilar, T.C. "Neurotransmición y epilépsia" En: Feria Velasco, A. y col. "EPILEPSIA". Ed. Trillas, México. pp. 98-139. 1986.
37. Shephard, R.A., Toal, L. and Leslie, J.C. "Effects of Agonist and Antagonists at the GABA/ Benzodiazepine Receptor on Conditioned Suppression in Rats" *Pharmacol Biochem Behav* 36(1) 39-43, 1990.
38. Snider, S.R and Snider, R.S. "Phentoin and Cerebellar Lesions. (Similar effects on cerebelar Catecholamine Metabolism)." *Arch Neurol*. Vol. 34 pp 162-167, 1977.

39. Solhs, H., Galindo-Morales, J.A. y Bravo, J. "Efecto de la 4-hidroxil, 4-etil, 4-fenil butiramida y su análogo (HEPP) sobre la excitabilidad neuronal"(En prensa). 1990.
40. Van Gelder, N.M. "Contributions of Basic Neurochemistry towards a Novel Concept of Epilepsy". Neurochemical Research, Vol.12, No.2, pp. 111-119. 1987.
41. Yokoi, I., Yamamoto, M., Fujikama, N., Shirashu, A. and Mori, A. "Determination of Neurotransmitter release into the caudate nucleus during convulsions induced by pentylentetrazole using in vivo differential pulse voltametry." Brain Research, 385. pp. 212-218, 1986.

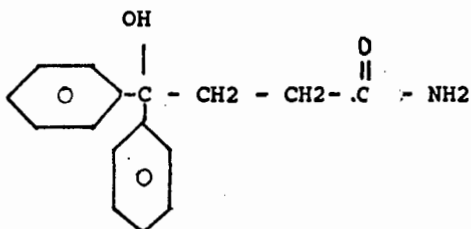
FIGURAS :



4-Hidroxi, 4-Etil, 4-Fenil Butiramida. (HEPB)



4-Hidroxi, 4-Metil, 4-Fenil Butiramida. (HMPB)



4-Hidroxi, 4,4-Difenil Butiramida. (HDPB)

FIG.1 Fórmulas desarrolladas de cada uno de los compuestos que forman parte de la primera generación de anticonvulsivos sintetizados en México por el Dr. Guillermo Carbajal en 1964.

PORCENTAJE DE RECUPERACION PROMEDIO DEL DHBA EN VARIAS REGIONES DEL SNC

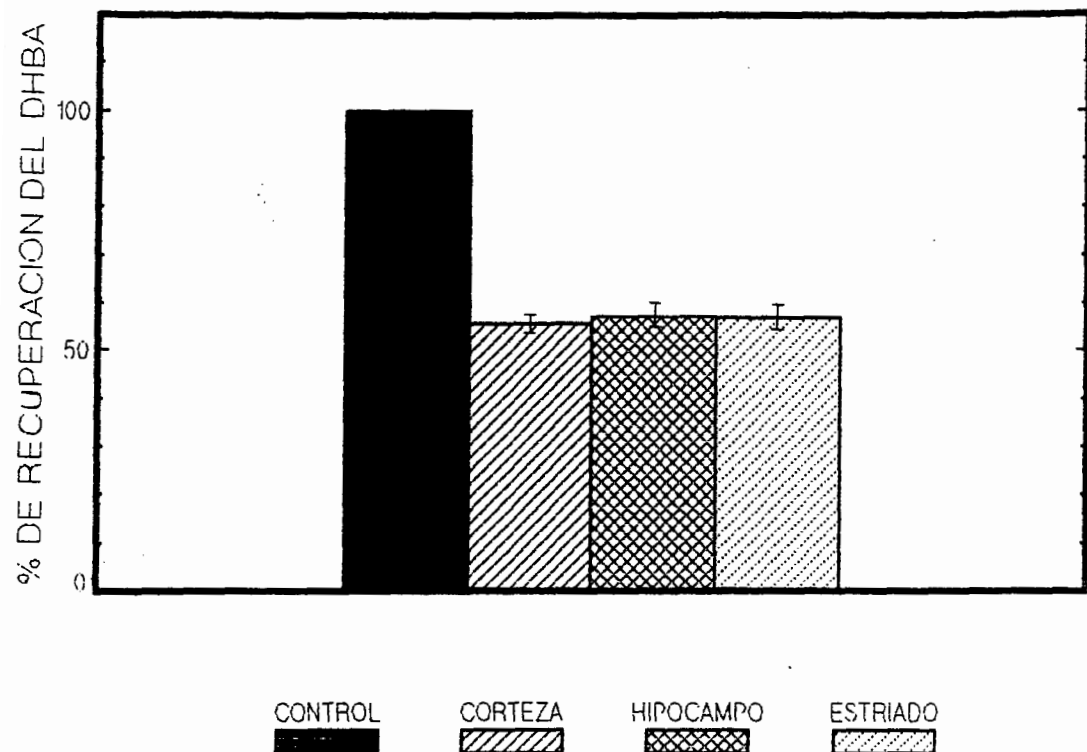


FIG. 2 Porcentaje de recuperación promedio de la dihidroxi-benzilamina (estandar interno) en la separación cromatográfica por adsorción en Alumina activada, en diferentes regiones del SNC. Los valores representan la media \pm D.E. de las 360 determinaciones cromatográficas realizadas.

EFFECTO DEL HEPB SOBRE LOS NIVELES DE NE A DIFERENTES DOSIS

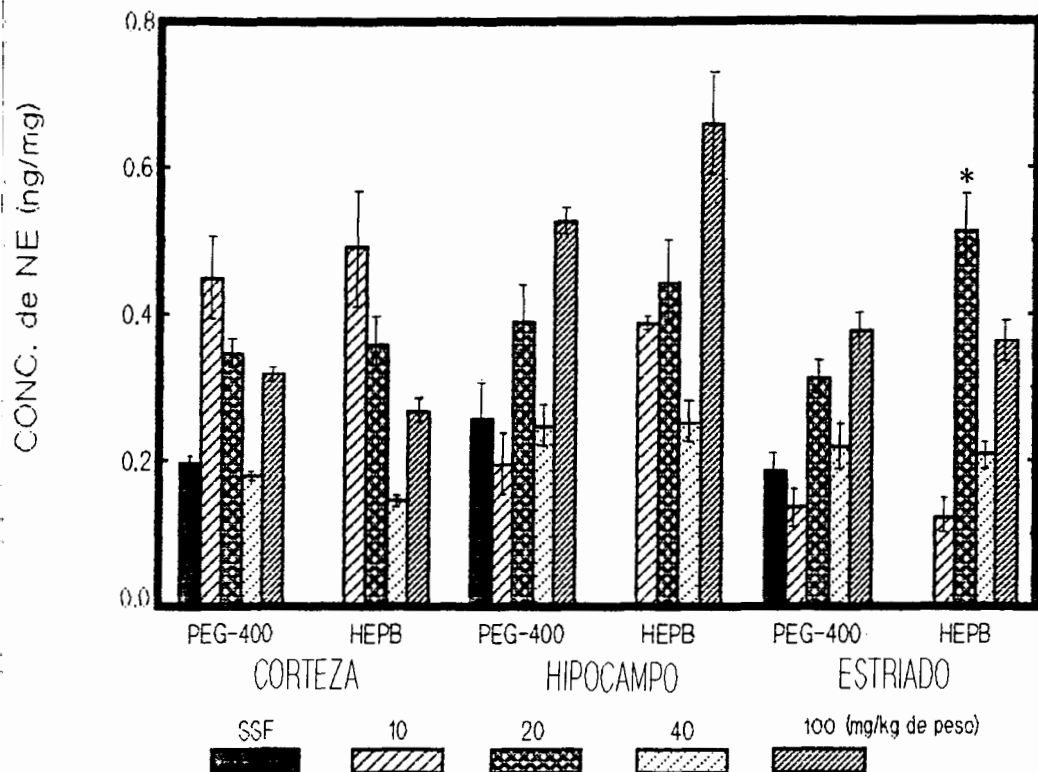


FIG. 3 Efecto del HEPB a los 60 minutos despues de su administración a diferentes dosis, sobre la concentración de norepinefrina en la corteza, hipocampo y cuerpo estriado en el ratón adulto. PEG-400= animales testigo que recibieron polietilenglicol en solución salina como vehículo.

HEPB= grupo experimental que recibieron el HEPB en PEG-400 a las dosis indicadas. Los valores representan la media \pm D.E. de por lo menos 3-6 experimentos por separado.

EFFECTO DEL HEPB SOBRE LOS NIVELES DE DA A DIFERENTES DOSIS

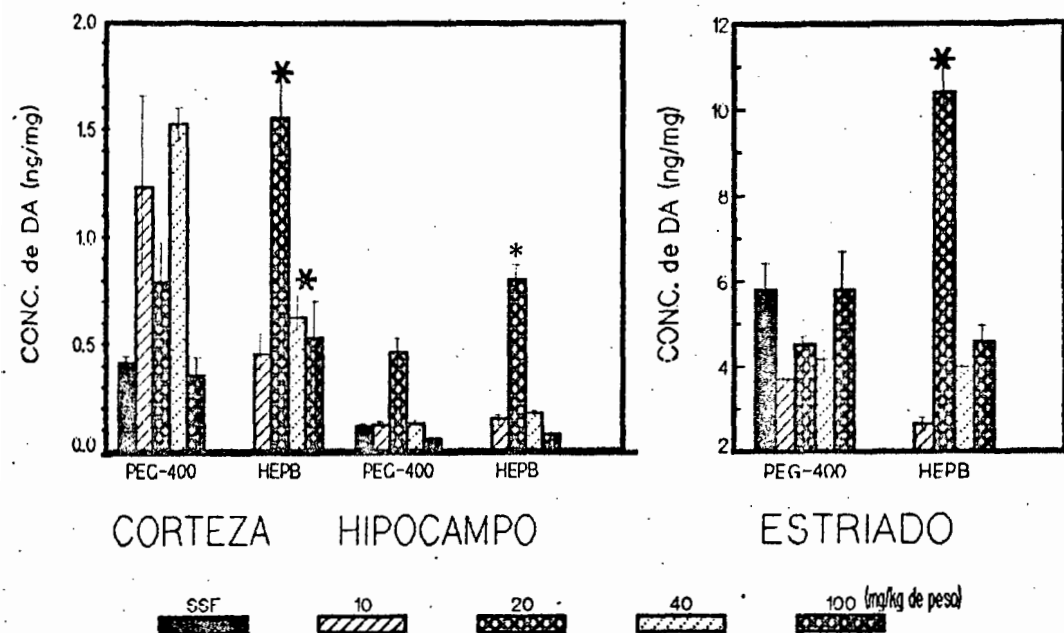


FIG. 4 Efecto del HEPB a los 60 minutos después de su administración a diferentes dosis, sobre la concentración de dopamina en la corteza, hipocampo y cuerpo estriado en el ratón adulto. PEG-400- animales testigo que recibieron polietilenglicol en solución salina como vehículo. HEPB= grupo experimental que recibieron el HEPB en PEG-400 a las dosis indicadas. Los valores representan la media \pm D.E. de por lo menos 3-6 experimentos por separado.
(*) Estadísticamente significativo en comparación con los valores controles ($p < 0.01$).

EFECTO DEL HEPB SOBRE LOS NIVELES DE NE A DIFERENTES DOSIS

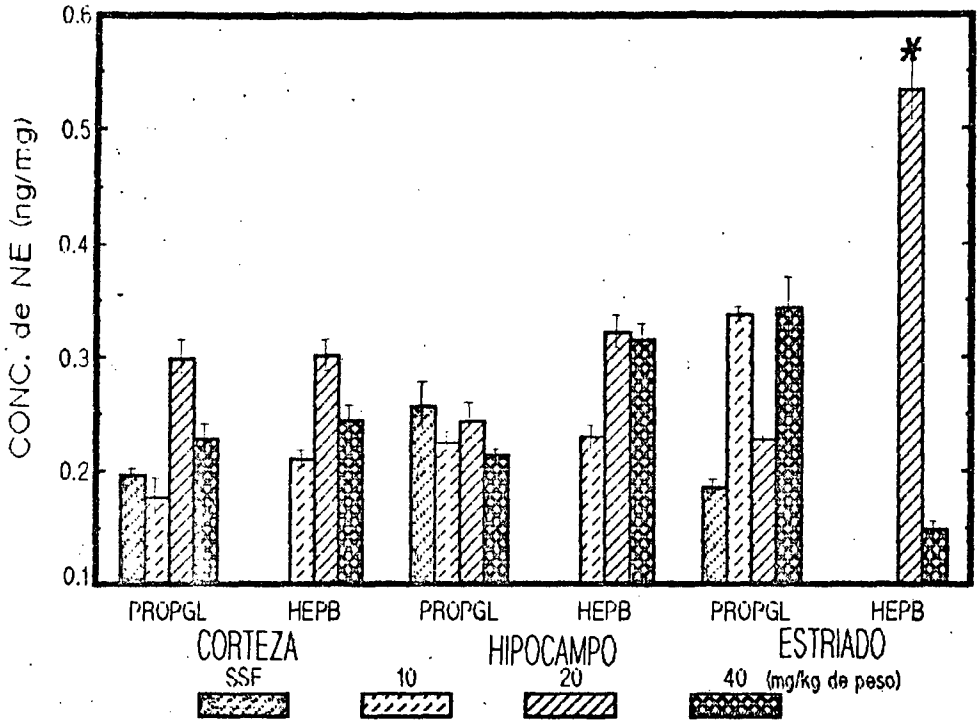


FIG. 5

Efecto del HEPB a los 60 minutos de su administración a diferentes dosis sobre la concentración de norepinefrina en la corteza, hipocampo y cuerpo estriado en el ratón adulto. PROPGL= animales testigo que recibieron propilenglicol en solución salina como vehículo. HEPB= grupo experimental que recibieron el HEPB en PROPGL a las dosis indicadas. Los valores representan la media \pm D.E. de por lo menos 3-6 experimentos por separado. (*)= Estadísticamente significativo en comparación con los valores controles ($p < 0.01$).

EFFECTO DEL HEPB SOBRE LOS NIVELES DE DA A DIFERENTES DOSIS

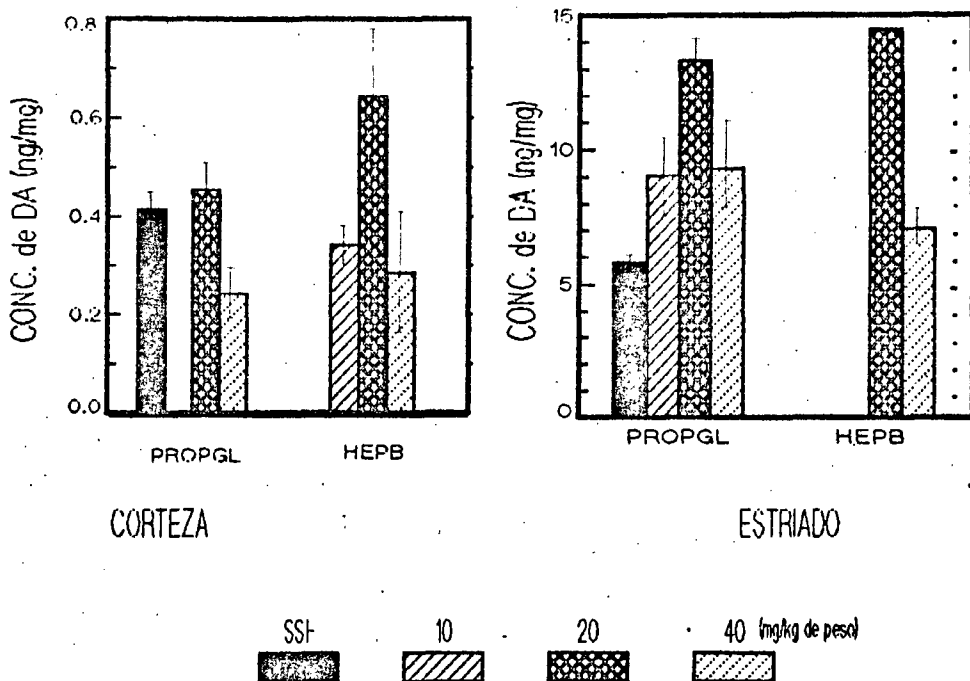


FIG. 6 Efecto del HEPB a los 60 minutos despues de su administraci3n a diferentes dosis, sobre la concentraci3n de dopamina en la corteza, hipocampo y cuerpo estriado en el rat3n adulto. PROPGL= animales testigo que recibieron propilenglicol en soluci3n salina como veh3culo. HEPB= grupo experimental que recibieron el HEPB en PROPGL a las dosis indicadas. Los valores representan la media \pm D.E. de por lo menos 3-6 experimentos por separado.

EFFECTO DEL HEPB SOBRE LOS NIVELES DE NE A DIFERENTES TIEMPOS

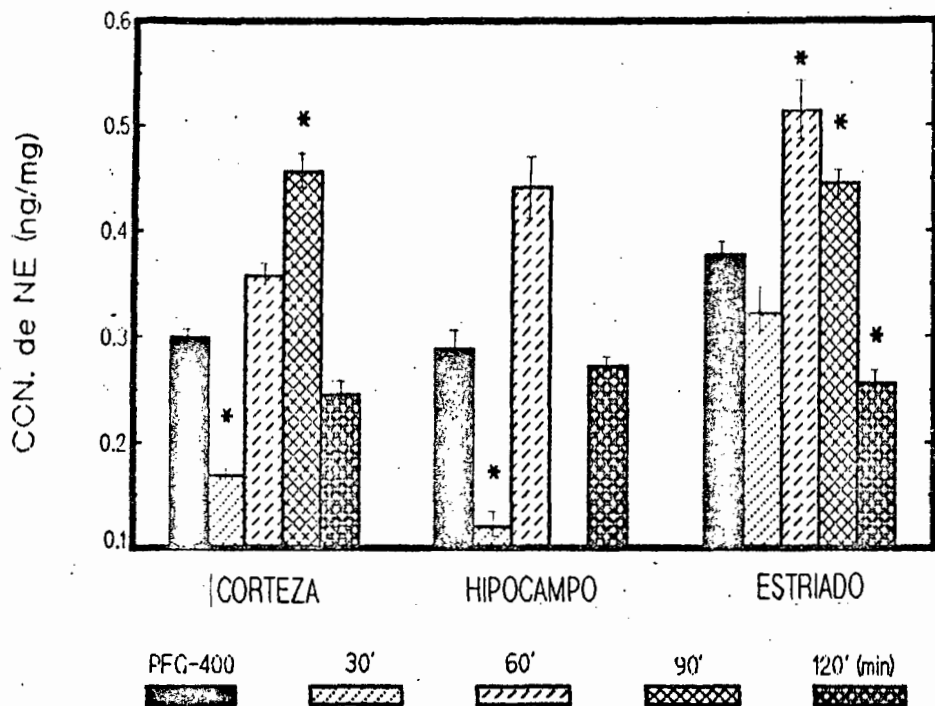


FIG. 7 Efecto del HEPB a la dosis de 20 mg/kg de peso corporal despues de la administraci3n a diferentes tiempos. sobre la concentraci3n de norepinefrina la corteza cerebral, hipocampo y cuerpo estriado en el rat3n adulto. PEG-400= animales testigo que recibieron polietilenglicol en soluci3n salina como veh3culo. HEPB= grupo experimental que recibieron el HEPB en PEG-400 a las dosis indicadas. Los valores representan la media \pm D.E. de por lo menos 3-6 experimentos por separado. (*)= Estadisticamente significativo en comparaci3n con los valores controles ($p < 0.01$).

EFFECTO DEL HEPB SOBRE LOS NIVELES DE DA A DIFERENTES TIEMPOS

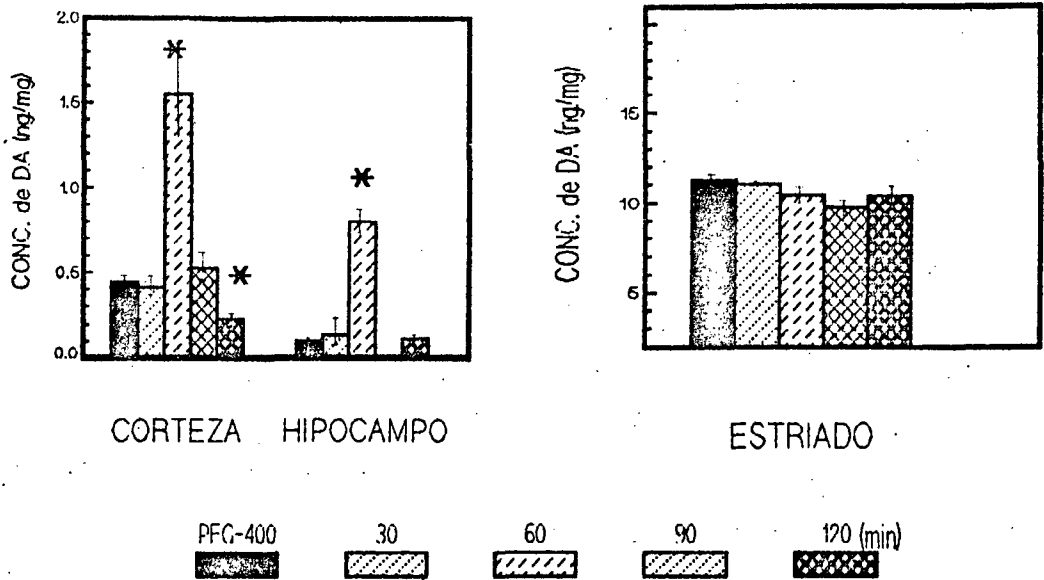


FIG. 8 Efecto del HEPB a la dosis de 20 mg/kg de peso corporal despues de la administraci3n a diferentes tiempos. sobre la concentraci3n de dopamina en la corteza cerebral, hipocampo y cuerpo estriado en el rat3n adulto. PEG 400= animales testigo que recibieron polietilenglicol en soluci3n salina como veh3culo. HEPB= grupo experimental que recibieron el HEPB en PEG-400 a las dosis indicadas. Los valores representan la media \pm D.E. de por lo menos 3-6 experimentos por separado. (*)= Estadisticamente significativo en comparaci3n con los valores controles ($p < 0.01$).



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección

Expediente

Número 391/91

SR. MARIO IGNANCIO ROMERO ORTEGA
P R E S E N T E . . -

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aproha do el tema de tesis "EFECTO DE LA 4-HIDROXI, 4-ETIL, 4-FENIL, BUTIRAMIDA - (HEPB) SOBRE LA CONCENTRACION DE CATECOLAMINAS EN EL CEREBRO DEL RATON - - ADULTO", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informo que ha sido aceptado como - Director de tesis el M. en C. Carlos Beas Zarate.

A T E N T A M E N T E

"PIENSA Y TRABAJA"

"AÑO LIC. JOSE GPE. ZUNO HERNANDEZ"

Guadalajara, Jal., 4 de Junio de 1991

EL DIRECTOR



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

M. EN C. CARLOS BEAS ZARATE

EL SECRETARIO

M. EN C. MARTIN PEDRO TENA MEZA

c.c.p. El Dir. de Tesis M. en c. Carlos Beas Zarate

c.c.p. El expediente del alumno.-

'pgp

Al contestar este oficio citese fecha y número