

1994-B

087479218

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS  
BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS  
DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AMBIENTALES



EFECTO DEL ANTICONVULSIONANTE  
4-HIDROXI, 4-ETIL, 4-FENIL BUTIRAMIDA  
(HEPB SOBRE LA LIBERACION DE DOPAMINA  
EXOGENA EN REBANADAS DE ESTRIADO  
DE LA RATA

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

VERONICA GUADALUPE TOBON BECERRA

GUADALAJARA, JAL., OCTUBRE 1995

15993/003427



Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
División de Ciencias Biológicas y Ambientales  
Biología

C. VERONICA GUADALUPE TOBON BECERRA

P R E S E N T E. -

Por medio de la presente, nos permitimos informar a usted, que se autoriza el cambio de titulo de la tesis "EFECTO DE LOS ANTICONVULSIONANTES 4-HIDROXI, 4-ETIL, 4-FENIL BUTIRAMIDA (HEPB) Y 3-HIDROXI 3-ETIL, 3-FENIL PROPIONAMIDA (HEPP) SOBRE EL TRANSPORTE DE DOPAMINA EXOGENA EN REBANADAS DE ESTRIADO EN RATA: ESTUDIO in vitro" por el titulo de "EFECTO DEL ANTICONVULSIONANTE 4-HIDROXI, 4-ETIL, 4-FENIL BUTIRAMIDA (HEPB) SOBRE LA LIBERACION DE DOPAMINA EXOGENA EN REBANADAS DE ESTRIADO DE RATA" .

Sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Zapopan, Jal. 15 de Diciembre de 1994

EL DIRECTOR

DR. FERNANDO ALFARO BUSTAMANTE

EL SECRETARIO

BIOL. GUILLERMO BARBA CALVILLO

C. U. C. B. A.



c.c.p.- El M. en C. Carlos Beas Zarate, Director de Tesis.-pte.  
c.c.p.- el expediente

DIV. DE CS.  
BIOLOGICAS Y  
AMBIENTALES

cglr.

DR. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ  
DIRECTOR DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES DE LA  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

P R E S E N T E

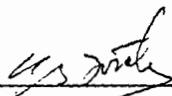
A través de este conducto nos permitimos comunicarles que la C. VERONICA GUADALUPE TOBCN BECERRA, pasante de Licenciatura de Biología con número de código 097479218 ha concluido satisfactoriamente el trabajo de tesis titulado "EFECTO DEL ANTICONVULSIONANTE 4-HIDROXI, 4-ETIL, 4-FENIL BUTIRAMIDA (HEPB) SOBRE LA LIBERACION DE DOPAMINA EXOGENA EN REBANADAS DE ESTRIADO DE LA RATA". Asimismo, le informamos que habiendo revisado el manuscrito de tesis, consideramos que cumple con los requisitos establecidos para su impresión y para la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior para los fines que haya lugar.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. a 10 de Octubre de 1995

DIRECTOR DE TESIS

  
\_\_\_\_\_  
M. en C. Carlos Beas Zarate

SINODALES

1. Dr. Alfonso E. Islas Rodríguez
2. M. en C. Arturo Orozco Baroccio
3. Biol. Rodrigo Castellanos Michel



***DEDICATORIA:***

El presente trabajo lo dedico con todo cariño y admiración a ***TI MAMA***, por el apoyo incondicional que me has brindado en el transcurso de mi vida, y por ser el ***tesoro*** más valioso, a quien debo todo lo que soy.

*Gracias*

## *AGRADECIMIENTOS*

Deseo expresar mi agradecimiento a mi tía **Bertha**, por ser un apoyo solidario de mi formación.

A mis hermanos: **Jorge, Samuel y Aldo**, porque en las buenas y en las malas de alguna manera siempre hemos estado juntos.

Al M. en. C. **Carlos Beas Zárate**, por la dirección y apoyo en la realización de este trabajo.

Mi más sincero agradecimiento al M. en C. **Ramón Reynoso Orozco** por su apoyo, y sobre todo, su valiosa amistad.

A mis compañeros y amigos por su amistad, por los momentos que hemos compartidos juntos sabiendo que permanecerán como recuerdos inolvidables grabados en mi corazón.

## INDICE GENERAL

Lista de Abreviaturas .....	i
Resumen .....	ii
Introducción .....	1
Antecedentes .....	7
Plantamiento del problema .....	12
Hipótesis .....	14
Objetivos .....	16
Diagrama experimental .....	18
Material y Métodos .....	20
Resultados .....	24
Discusión .....	27
Conclusiones .....	33
Figuras .....	35
Bibliografía .....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ach	Acetilcolina
Ca <sup>++</sup>	Ión calcio
Cl <sup>-</sup>	Ión cloro
Co <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
D <sub>1</sub> , D <sub>2</sub> y D <sub>5</sub>	Receptor a DA tipo 1, 2 y 5
DA	Dopamina
DAérgica	Dopaminérgica
GABA	Acido gamma-amino butírico
GABA <sub>A</sub>	Receptor GABA tipo A
GABAérgica	Neurona que libera GABA como neurotransmisor
Gluérgica	Glutamatérgica
[ <sup>3</sup> H]	Tritio
5-HTérgica	Serotoninérgica
K <sup>+</sup>	Ion potasio
Mg <sup>++</sup>	Ión magnesio
μl	Micro litro
μM	Micromolar
mCi	Milicurie
mg	Miligramo
mM	Milimolar
min	Minuto
MUSC	Muscimol
Na <sup>+</sup>	Ion sodio
NE	Norepinefrina
NEérgica	Noradrenérgica

## R E S U M E N

Diversos estudios indican una importante participación de las catecolaminas (entre éstas la DA), en la regulación de la actividad convulsiva, así, se ha demostrado que participa en algunos modelos de epilepsia experimental como mediador del efecto anticonvulsivo.

Además algunos fármacos anticonvulsivos modifican la neurotransmisión sináptica en diversas áreas del SNC, la mayoría de estos tienden a disminuir las excitaciones neuronales, debido a que permiten aumentar los procesos inhibitorios a través de la activación de receptores. Sin embargo no se conoce con precisión el mecanismo de acción del anticonvulsionante HEPB sobre la liberación de DA en el estriado de la rata.

Los resultados muestran que el HEPB incrementó la liberación espontánea y estimulada de DA significativamente a partir de 200 a 500  $\mu\text{M}$  de HEPB, de manera dependiente de la concentración. También se muestra que la iodo metil bicuculina (IMB 50  $\mu\text{M}$ ), induce un incremento en la liberación de DA, mientras que el muscimol (MUSC 5  $\mu\text{M}$ ) sólo ó en combinación con el HEPB no produjo cambio significativo respecto a la liberación estimulada del testigo.

Estos resultados indican que el HEPB modifica la liberación de DA en rebanadas de estriado en forma indirecta, posiblemente a través del sistema AChérgico como parte de la actividad anticonvulsionante.

I N T R O D U C C I O N

El Sistema Nervioso (SN), es el conjunto de estructuras funcionalmente especializadas, mediante las cuales el organismo responde adecuadamente a los estímulos del medio externo e interno, que se intercalan formando una red de comunicaciones.

Anatómicamente, el sistema nervioso se divide en: Sistema Nervioso Periférico (SNP), estructurado por nervios y pequeños agregados de células nerviosas que se denominan ganglios nerviosos y el Sistema Nervioso Central (SNC), formado por el encéfalo y la médula espinal los cuales en conjunto representan un nivel integrativo.

El encéfalo se encuentra parcialmente dividido en dos mitades, llamadas hemisferios cerebrales por una profunda y vertical cisura longitudinal, en cada hemisferio se distinguen tres superficies: dorsolateral, basal, y media. La superficie de los hemisferios contiene un manto de materia gris, y la neocorteza que comprende cerca del 90% de la superficie cerebral. La corteza cerebral está relacionada con el cuerpo estriado y el *globus pallidus* a través de dos vías: Una directa, por medio de fibras que se proyectan al núcleo caudado, pútemen y palido; y la otra indirecta, por medio del núcleo subtalámico y sustancia Negra (López Antúnez, 1983).

## 1.- ANATOMIA MORFO-FUNCIONAL DEL ESTRIADO

Las conexiones aferentes y eferentes de la sustancia negra con el estriado, han adquirido importancia debido a que las neuronas de este núcleo constituyen una de las vías importantes del sistema dopaminérgico.

El estriado es el componente principal del sistema de ganglios basales el cual se relaciona con aspectos conductuales, emocionales, motivacionales, motores y en el proceso de la memoria (Carman, J. H. y col. 1965) (Fig 1).

### *Fibras Aferentes al Estriado*

a) Conexiones Cortico-Estriatales. Es la vía más extensa de entrada al estriado que provienen de la neocorteza y se proyecta topográficamente al estriado. Estas proyecciones están formadas por neuronas que se caracterizan morfológicamente por poseer espinas de tamaño mediano.

b) Conexiones Talamo-Estriatales. Se relacionan con fibras de los núcleos talámicos: intralaminares, de la línea media, laterales y ventrales, y por conexiones recíprocas con el cuerpo estriado.

c) Conexiones Nigro-Estriatales. Constituyen una de las vías más importantes al putamen. Son fibras que se originan en la pars compacta y reticular de la sustancia negra,

ascienden al subtálamo y pasan entre la cápsula interna y de ahí al núcleo caudado y pálido. La sustancia negra, en primates aparece como un núcleo pigmentado, pero en otras especies de mamíferos se extiende a lo largo del cerebro medio y aparece bilateralmente como una banda de células entre el pédunculo cerebral y el tegmento.

#### *Fibras Eferentes del Estriado*

El núcleo caudado y el putamen están relacionados por fibras internucleares. La mayor proyección eferente del estriado se conduce hacia el pálido, al cual llegan fibras del caudado y del putámen. (López Antúnez. 1983; Gerfen C. R. 1992) (Fig 2).

#### **2.-IMPORTANCIA DE LA VIA NEGRO-ESTRIATAL**

La vía negro-estriatal se caracteriza por ser predominantemente dopaminérgica, se origina en la sustancia negra y que comúnmente está dividida en dos diferentes regiones; la **zona pars compacta** (ZPC) y la **zona pars reticulata** (ZPR) (Noback, C. R. 1980; Gerfen, C. R. 1991). El estudio de ésta vía ha sido de fundamental importancia debido a las implicaciones que posee en algunas enfermedades neurodegenerativas tales como el mal de Parkinson y Huntington cuya característica principal es una falta de coordinación en el movimiento. (Olney, J. W., et al. 1990)

### 3.- SINAPSIS DAérgica

#### *Síntesis y Degradación de DA*

En las neuronas DAérgicas la DA se forma a partir de la tirosina que se transforma en L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) por medio de la tirosina hidroxilasa, enzima que constituye el factor limitante en la síntesis de DA, ésta enzima requiere del cofactor Pteridina (PT) el cual es reoxidado por la enzima pteridina reductasa. Posteriormente la L-DOPA se descarboxila mediante la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos para formar la DA (Cooper, J. R. 1982; Siegel, G. J. 1989). La degradación metabólica de la DA se realiza por medio de la enzima monoamina oxidasa (MAO), que se localiza en la membrana externa de la mitocondria e interviene en la desaminación oxidativa de las catecolaminas. La DA también puede ser inactivada por la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) que se localiza en la membrana de la neurona postsináptica.

#### *Características del Transporte de DA*

Después de la síntesis de la DA en la terminal sináptica, éste se almacena en vesículas sinápticas por medio de un mecanismo de transporte activo dependiente de energía y de iones  $Mg^{++}$ . Así, la liberación de la DA se realiza después de que llega un impulso eléctrico por excitación, fenómeno que es dependiente de iones  $Ca^{++}$ . Por lo tanto,

después de que la DA viaja a través del espacio intersináptico interactúa con su(s) receptor(es) correspondiente(s), la DA es inactivada por medio de un proceso de captación dependiente de sodio y de la temperatura, y puede ser bloqueado por una alta concentración de  $K^+$ , (Baker, G. B. y Dyck, E. L. 1985). El proceso de captura puede ser bloqueado por inhibidores, tales como nomifensina, benzotropina, y cocaína (Fairbrother, I. S. y col. 1990 y Oliver Valérie y col. 1992) (Fig 3).

#### Receptores de DA

En la actualidad se han reportado varios tipos de receptores a DA, que de acuerdo a su estructura se han clasificado como  $D_1$  a  $D_5$ , los cuales difieren en la composición de sus subunidades, así como la interacción a diversos agonistas y antagonistas específicos. En el caso del estriado predomina la presencia de receptores a DA del tipo  $D_1$  y  $D_2$  y tienen un papel importante en la propagación de crisis de tipo motor. La manipulación farmacológica de estos receptores es capaz de modular la actividad convulsiva (Gehlert y col. 1986, Carlson, J. H. y col. 1990).

La localización anatómica de éstos receptores en neuronas estriatales parecen ubicarse en células colinérgicas así como en la misma terminal dopaminérgica (Lehmann y Langer 1983, Stoof y Keabian 1982).

A N T E C E D E N T E S

Diversos estudios indican una 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, se establece una deficiencia en la transmisión catecolaminérgica que puede contribuir a tal susceptibilidad (Feria-Velasco, 1986). También, la administración de fármacos que reducen los niveles de éstos compuestos, facilitan las crisis convulsivas (Chapman, A. G., 1987), así como una disminución en la concentración de NE en el SNC incrementa la severidad de las crisis, en tanto un aumento en la concentración de NE y DA reducen la severidad de éstas (Seyfried, T. N., 1985 y Lomax, P., 1987).

Lo anterior sugiere que altos niveles DA en el cerebro pueden proteger a diferentes especies de animales en diversos tipos de convulsiones, así como una estrecha relación entre la concentración de catecolaminas y el control de la hiperexcitabilidad neuronal en el SNC (McKenzie y Soroko 1972 King y Burnham 1980, y Warter, J. M., 1988). La estrecha correlación entre el sistema catecolaminérgico y el proceso convulsivo, también se manifiesta por estudios realizados en humanos con crisis epilépticas intratables en donde se ha demostrado un aumento en la actividad de la tirosina hidroxilasa en la corteza temporal (Goldstein, D. S. y col. 1988, y Pintor, M., 1990).

Por otro lado, existen evidencias de que los receptores DAérgicos tienen un papel importante en la propagación de la actividad convulsiva, ya que se han descrito no sólo cambios en los niveles de DA en el cerebro durante las crisis convulsivas, sino que además se ha demostrado que agonistas a  $D_1$  como el SKF 38393 disminuye el umbral convulsivo inducido por pilocarpina (Barone, P. y col., 1991), así como la presencia del antagonista SCH 23390 reduce la actividad convulsionante, lo que implica una participación del receptor  $D_1$  en el proceso de convulsiones motoras (Warter, J. M., 1988; Burke, K., 1990). Mientras que agonistas al receptor  $D_2$  protegen contra el desarrollo de convulsiones inducidas por pilocarpina (Turski, L., 1988).

Guillermo Carvajal 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-etil, 4-fenil butiramida (HEPB) que al ser valorada experimentalmente ha demostrado un amplio espectro de acción anticonvulsiva similar al Fenobarbital y Valproato, lo cual lo sitúa al igual que sus homólogos (HEPA y HEPP) como anticonvulsivos mayores, muy útiles para controlar las crisis convulsivas (Carvajal, G. 1986).

El HEPB fué sintetizado específicamente para reforzar la acción inhibitoria del GABA, a fin de apoyar el

restablecimiento del equilibrio ante una excesiva y repetitiva acción de neurotransmisores excitatorios que sostienen las crisis convulsivas. En base a lo anterior, se planteó la posibilidad de obtener un efecto anticonvulsionante que inhibiera la GABA transaminasa, y por lo tanto se lograra un aumento de los niveles de GABA (Carvajal, G. 1986). Sin embargo se ha demostrado que el HEPB reduce la unión de agonistas a benzodiazepina con su polireceptor a GABA (Martínez de Muñoz, D. 1986), 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. Así, experimentos previos realizados en nuestro laboratorio han demostrado un importante incremento en los niveles de NE y de DA principalmente en el cuerpo estriado del ratón adulto por la administración del anticonvulsionante denominado 4-hidroxi-4-etil-4-fenil-butiramida (HEPB) a una dosis de 20 mg/kg de peso, estos resultados preliminares sugirieron que parte del mecanismo de acción del HEPB como anticonvulsionante podría ser a través de modificar la neurotransmisión catecolaminérgica (Romero, M., 1991).

En virtud de lo anterior en el presente trabajo se realizaron experimentos *in vitro* para conocer si el HEPB modula la liberación de dopamina en el estriado, y precisar la participación del sistema DAérgico en el mecanismo anticonvulsivo de este fármaco.

## PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

Diversos estudios bioquímicos, farmacológicos y fisiológicos han demostrado la participación de las catecolaminas (entre éstas la dopamina), en la regulación de la actividad convulsiva en diferentes modelos de epilepsia (Maynert, E. W., 1975; Laird, H. E. y Jobe, P. C., 1987).

Por otro lado, algunos anticonvulsionantes modifican la neurotransmisión sináptica en diversas áreas del S. N. C. Sin embargo el efecto del fármaco derivado de la familia de las butirámidas, el HEPB se desconoce hasta ahora. Por lo que el desarrollo de estudios que permitan conocer con más precisión el mecanismo de acción de compuestos anticonvulsionantes alternativos resulta ser de vital importancia, ya que la gran mayoría de medicamentos existentes en el mercado poseen efectos secundarios indeseables para el paciente.

# H I P O T E S I S

Sí la Dopamina participa en la regulación de la actividad convulsiva, luego entonces, el HEPB incrementará la liberación de DA como parte de su mecanismo de acción anticonvulsionante.

# O B J E T I V O S

**GENERAL :**

Conocer el efecto del HEPB sobre la liberación de DA exógena en estriado de rata.

**PARTICULARES :**

1) Determinar el efecto de diferentes concentraciones de HEPB sobre la liberación espontánea y estimulada de DA en rebanadas de estriado de rata.

2) Determinar el efecto de un agonista y un antagonista del sistema GABA en presencia del HEPB sobre la liberación de DA en rebanadas de estriado de rata.

**DIAGRAMA EXPERIMENTAL**

## DISEÑO EXPERIMENTAL

RATAS WISTAR ♂ ADULTAS DE 250-300 g

|  
SACRIFICIO POR DECAPITACION

|  
DISECCION DE CUERPO ESTRIADO

EXP. DE LIBERACION  
ESPONTANEA

EXP. DE LIBERACION  
ESTIMULADA

PRESENCIA DE HEPB  
10  $\mu$ m, 50  $\mu$ m, 100  $\mu$ m, 200  $\mu$ m  
y 500  $\mu$ m

PRESENCIA DE  
HEPB  
200  $\mu$ m y 500  $\mu$ m

PRESENCIA DE  
a) IMB 50  $\mu$ m  
b) MUSIMOL 5  $\mu$ m

PRESENCIA DE  
a) IMB 50  $\mu$ m + HEPB  
500  $\mu$ m  
b) MUSIMOL 5  $\mu$ m  
+HEPB 500  $\mu$ m

**MATERIAL Y METODOS**

## 1.- REACTIVOS

Todos los compuestos que se utilizaron fueron en grado reactivo, Cloruro de Sodio ( $\text{NaCl}$ ), Cloruro de Potasio ( $\text{KCl}$ ), Cloruro de Magnesio ( $\text{MgCl}_2$ ), Fosfato Monobásico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), Fosfato Dibásico de Sodio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), Bicarbonato de Sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), Cloruro de Calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), Glucosa, Sacarosa ( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ), ác. ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), ác. Acético ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ), Etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) y Líquido de Centelleo, fueron adquiridos en Merck (México).

Ipronazid, Dopamina (DA), Iodo Metil Bicuculina (IMB), Muscimol fueron adquiridos en Sigma Chemical Company (St. Louis Missouri), DA- $^3\text{H}$  (Actividad específica 46 mCi/mmol) fué adquirida en New England Nuclear (Boston Massachusetts), y el HEPB fué donado por el Dr. Carvajal (Cs. Biológicas del IPN)

## 2.- DISEÑO EXPERIMENTAL

### A) Animales

En todos los experimentos que se utilizaron ratas de la cepa Wistar de 2 meses de edad y con un peso aproximado de 250-300 gramos, las cuales se mantuvieron en condiciones de bioterio, esto es, con libre acceso al agua y alimentación normal, con ciclos de luz-oscuridad de 12x12 horas, humedad relativa del ambiente (40% a 50%) temperatura 25°C constante.

### B) Experimentos de Liberación

Los animales fueron sacrificados por decapitación, el encéfalo se removió rápidamente en frío, se disectó el cuerpo estriado, se obtuvieron rebanadas que se distribuyeron en viales (con 25 mg de tejido en cada uno), fueron resuspendidas en 1 ml de una solución de Krebs-bicarbonato, que contenía Ipronazid 25  $\mu\text{M}$  y ác. ascórbico (1 mM) a un pH 7.4 que se ajustó con una mezcla de  $\text{CO}_2$ - $\text{O}_2$ .

Las muestras fueron preincubadas con agitación continua durante 10 minutos a una temperatura 37 °C, posteriormente se adicionó 20  $\mu\text{l}$  de DA- $^3\text{H}$  a una concentración final de 0.1  $\mu\text{M}$ , esta concentración se utilizó en todos los experimentos. Al final del tiempo de incubación, las rebanadas se depositaron en un sistema de perfusión, en los que se utilizaron 4 cámaras independientes, conectadas a una bomba peristáltica (con 4 vias), se lavaron con un medio de bajo potasio (3 mM) por 10 minutos a la máxima velocidad (1.2 ml/min), y otros 10 minutos a la mínima velocidad (0.5 ml/min). Se colectaron 13 fracciones de cada vía, la exposición del tejido a la presencia del fármaco, en sus diferentes concentraciones, fué a partir de la fracción No. 4 hasta la fracción No. 8, a partir de la cuál se restituyó el medio de perfusión sin el fármaco. Las concentraciones del HEPB utilizadas fueron de 10, 50, 100, 200 y 500  $\mu\text{M}$  (ver diagrama).

Finalmente, las fracciones, así como al tejido, se le adicionó líquido de centelleo para contar la radioactividad

en un contador de centelleo líquido Beckman LS6000.

Los resultados se expresan en % de liberación de DA-<sup>[3H]</sup> en cada fracción y en relación a la cantidad total acumulada.

#### *C) Experimentos de Liberación Estimulada de DA.*

Estos experimentos se realizaron bajo el esquema previamente descrito para la liberación espontánea, sólo que en la fracción donde se aplicó el estímulo simultáneamente se adicionaron los compuestos GABAérgicos, muscimol (5  $\mu$ M) e iodometil bicuculina (50  $\mu$ M) en forma separada y en forma conjunta con el HEPB (500  $\mu$ M) (ver diagrama).

Los resultados se expresan en % de liberación de DA-<sup>[3H]</sup> en cada fracción y en relación a la cantidad total acumulada.

#### *D) Estadística*

El análisis estadístico comprendió la media y la desviación estandar de los datos, la diferencia entre las medias experimentales de basales y estimuladas, se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA).

# R E S U L T A D O S

Los resultados muestran un incremento significativo en la liberación espontánea de dopamina por el HEPB a concentraciones a partir de 100 hasta 500  $\mu\text{M}$  del 38, 62 y 86% respectivamente. Mientras que concentraciones menores a 100  $\mu\text{M}$  de HEPB (10 y 50  $\mu\text{M}$ ) no se observó efecto alguno sobre la liberación espontánea de DA (Fig 5).

En los experimentos de liberación estimulada con alta concentración de  $\text{K}^+$ , se observó un efecto que potenció significativamente la liberación de dopamina por el HEPB (200 y 500  $\mu\text{M}$ ) de manera dependiente de la concentración (Fig 6).

Con el propósito de profundizar sobre el posible mecanismo de acción del HEPB sobre la liberación estimulada de dopamina en rebanadas de estriado, se diseñó una serie de experimentos para determinar la posible participación del sistema GABAérgico y el HEPB sobre la liberación de DA.

Los resultados muestran que el antagonista del receptor  $\text{GABA}_A$ , iodo metil bicuculina (50  $\mu\text{M}$ ), induce un incremento del 56 % en la liberación de DA respecto a la liberación estimulada testigo. Mientras que cuando se adicionó iodo metil bicuculina en forma conjunta con el HEPB (500  $\mu\text{M}$ ), se observó un incremento altamente significativo del orden del 160 % (Fig 7). Sin embargo, el efecto del muscimol (5  $\mu\text{M}$ ), agonista del receptor  $\text{GABA}_A$ , sólo no produce ningún cambio en

la liberación de DA, mientras que en combinación con el HEPB produjo un ligero incremento significativo de un 35 % en la liberación de DA respecto a la liberación estimulada testigo (Fig 8).

Finalmente, se estableció la máxima liberación por estimulación con  $K^+$  obtenida en los efectos del TESTIGO, HEPB, IMB, IMB+HEPB, MUSC y MUSC+HEPB, sobre la liberación de DA; para lo cual se consideró el valor promedio de la fracción número 5, y se graficó como sobreflujo considerando la liberación basal como cero (Fig 9).

D I S C U S S I O N

La creación de nuevos fármacos anticonvulsivos se fundamenta principalmente sobre los mecanismos inhibitorios del cerebro, con esta base, se han desarrollado fármacos como el HEPB que forma parte de la primera generación de anticonvulsivos sintetizados y diseñados en México por Carvajal (1964), la idea original fué que estos fármacos desarrollarán una acción en el SNC de tipo inhibitorio de una forma semejante al GABA, lo que permitiría reducir las excitaciones neuronales. Por la estructura que presentan éstos compuestos, la actividad anticonvulsiva se manifiesta por la presencia de los grupos etilo y fenilo (Fig 4), a diferencia de otros fármacos anticonvulsivos, ya que algunos fármacos anticonvulsionantes modifican la neurotransmisión sináptica, tales como; las benzodiazepinas, barbituratos, valproato de sodio, entre otros; estos tienden a disminuir las excitaciones neuronales y por lo tanto permiten aumentar los procesos inhibitorios a través de la activación de receptores a GABA, así como producir un incremento en la conductancia al  $Cl^-$ . Por lo que la acción anticonvulsiva de estos fármacos se basa en su capacidad para mimetizar al GABA ó aumentar la capacidad del mismo para reducir las excitabilidad de algunas neuronas (Macdonald R. L., 1983; Shepard R. A. y col., 1990 y Meldrum B. S., 1992). Lo anterior se fundamenta en el hecho de que estudios recientes sobre la estructura del receptor a GABA tipo A muestran que posee sitios de unión específicos para diferentes compuestos como el GABA, picrotoxina (convulsionante), Benzodiazepinas,

Barbituratos y esteroides, que actúan alostéricamente con este tipo de receptor ó al canal  $\text{Cl}^-$  por lo que éste receptor se convierte en sitio potencial de unión para algunos fármacos con actividad anticonvulsionante (Twyman y Macdonald, 1991; DeLorey y Olsen, 1992; Macdonald y Twyman, 1992) (Fig 10).

Estudios *in vivo* demuestran que el HEPB inhibe y ejerce un efecto protector sobre las crisis convulsivas inducidas por Bicuculina (Carvajal, G., 1986). También, estudios electrofisiológicos *in vitro* con preparaciones de cobayo muestran que el HEPB produce una reducción en la frecuencia, amplitud y número de las descargas paroxísticas inducidas por pentilentetrazol (PTZ) y bicuculina (BIC), antagonistas al GABA, por lo que se postula que probablemente el HEPB ejerce una acción GABA mimética sobre receptores  $\text{GABA}_A$  (Pacheco, M. F. y col., 1990). De ésta manera, en el presente trabajo se muestra que el HEPB incrementa en forma significativa la liberación de DA en rebanadas de estriado, lo que sugiere que el sistema dopaminérgico podría estar implicado como parte de los mecanismos anticonvulsivos y/o de propagación de las crisis convulsivas. También éstos resultados muestran que la liberación de DA se estimula por bicuculina, antagonista del receptor a  $\text{GABA}_A$ , y se potencia ésta liberación en combinación con el HEPB lo que podría indicar que el efecto anticonvulsionante del HEPB posiblemente no implique activación directa del sistema GABAérgico, ya que se ha demostrado un incremento en la liberación de DA inducido por

GABA en rebanadas estriatales de rata (Ennis C. y Cox B., 1981; Reiman W. y col., 1982). También con el uso de antagonistas del receptor a GABA del tipo A y B se determinó que un incremento en la liberación de DA por GABA, así como la activación del receptor GABA<sub>A</sub>, lo que postuló su presencia en las terminales DAérgicas (Oertel y col., 1983). Un efecto opuesto se ha observado en preparaciones de sustancia negra y área tegmental, en la cual se observa una disminución en la liberación de DA por la activación de receptores GABA<sub>B</sub> (Lacey, M. G., 1988; Klitenick y col., 1992).

Por otro lado, existen evidencias que el GABA también incrementa la liberación de [<sup>3</sup>H]-acetilcolina en neuronas de retina como respuesta a la presencia de picrotoxina y bicuculina, ya que estudios *in vivo* con microdialisis y en presencia de bicuculina se observó un incremento en la liberación de acetilcolina en el estriado, mientras que agonistas a este receptor reducen dicha liberación de DA, este hecho está de acuerdo con nuestros resultados, por lo que se propone que la actividad anticonvulsionante del HEPB podría ser a través de un incremento inicial en la liberación de acetilcolina y éste a su vez inducir un efecto reflejo sobre la liberación de DA dado que las interneuronas colinérgicas del estriado reciben eferencias tónicamente activas de células GABAérgicas (Friedman, D. L., 1990; DeBoer, P. y Westerink, B. H. C., 1994 y Chang y Kita, 1992) (Fig 11).

Además de que las terminales DAérgicas poseen receptores para acetilcolina que modulan en parte la liberación fisiológica de DA (Lehmann, J. y Langer, S. Z., 1983). Sin embargo, experimentos adicionales se están llevando a cabo para demostrar sí el HEPB efectivamente estimula la liberación de acetilcolina- $^3\text{H}$  en rebanadas de estriado.

Finalmente, la estimulación en la liberación de DA por bicuculina y el HEPB se inhibe por el agonista del receptor a  $\text{GABA}_A$ , por lo que una posible interacción entre el HEPB y el propio receptor  $\text{GABA}_A$  como parte de la actividad anticonvulsionante no debe de descartarse, ya que experimentos previos con el derivado análogo del HEPB, el HEPP induce cambios importantes en la cinética de unión del GABA a su receptor (Chávez, J. L. y Martínez de Muñoz, D.), por lo que pudiera explicar en alguna medida el incremento en los niveles de CA inducido por el GABA (Kim, J. S., 1978).

Por otra parte, la liberación de DA también puede ser regulada por otros neurotransmisores o sustancias neuroactivas que convergen en el cuerpo estriado y ejercen diferentes efectos en la modulación sobre la liberación de DA (Ronken, E. y col., 1993). Así, existe una interacción entre terminales DAérgicas y 5-HTérgicas, así como con NEérgicas y Gluérgicas; tal interacción parece estar asociada con una regulación presináptica de un efecto estimulador sobre la liberación de DA en el estriado (Westfall, T. C., 1982,

Reisine, T. D. y col., 1982; Desce, J. M. y col. 1991). Además, la liberación de algunos de estos neurotransmisores puede modificarse a la vez por la acción de la DA (Chasselet, M. F., 1984), por lo que otros neurotransmisores pudieran estar implicados como parte del mecanismo anticonvulsivo y que modifiquen la transmisión DAérgica. De esta manera experimentos adicionales serán necesarios para dilucidar esta hipótesis sobre la participación de otros sistemas de neurotransmisión como parte del fenómeno anticonvulsivo.

C O N C L U S I O N E S

1.- Los resultados indican que el HEPB incrementa la liberación espontánea de DA, así como en la liberación estimulada con alta concentración de potasio (53 mM) en rebanadas de estriado de una forma dependiente de la concentración.

2.- El efecto del HEPB sobre la liberación de DA en el estriado se potencializa cuando se inhibe al sistema GABAérgico.

3.- Los resultados sugieren que en el efecto anticonvulsivo del HEPB participa la DA a nivel de cuerpo estriado, mientras que la participación del sistema GABAérgico es colateral y no por vía directa sobre la liberación de DA.

F I G U R A S

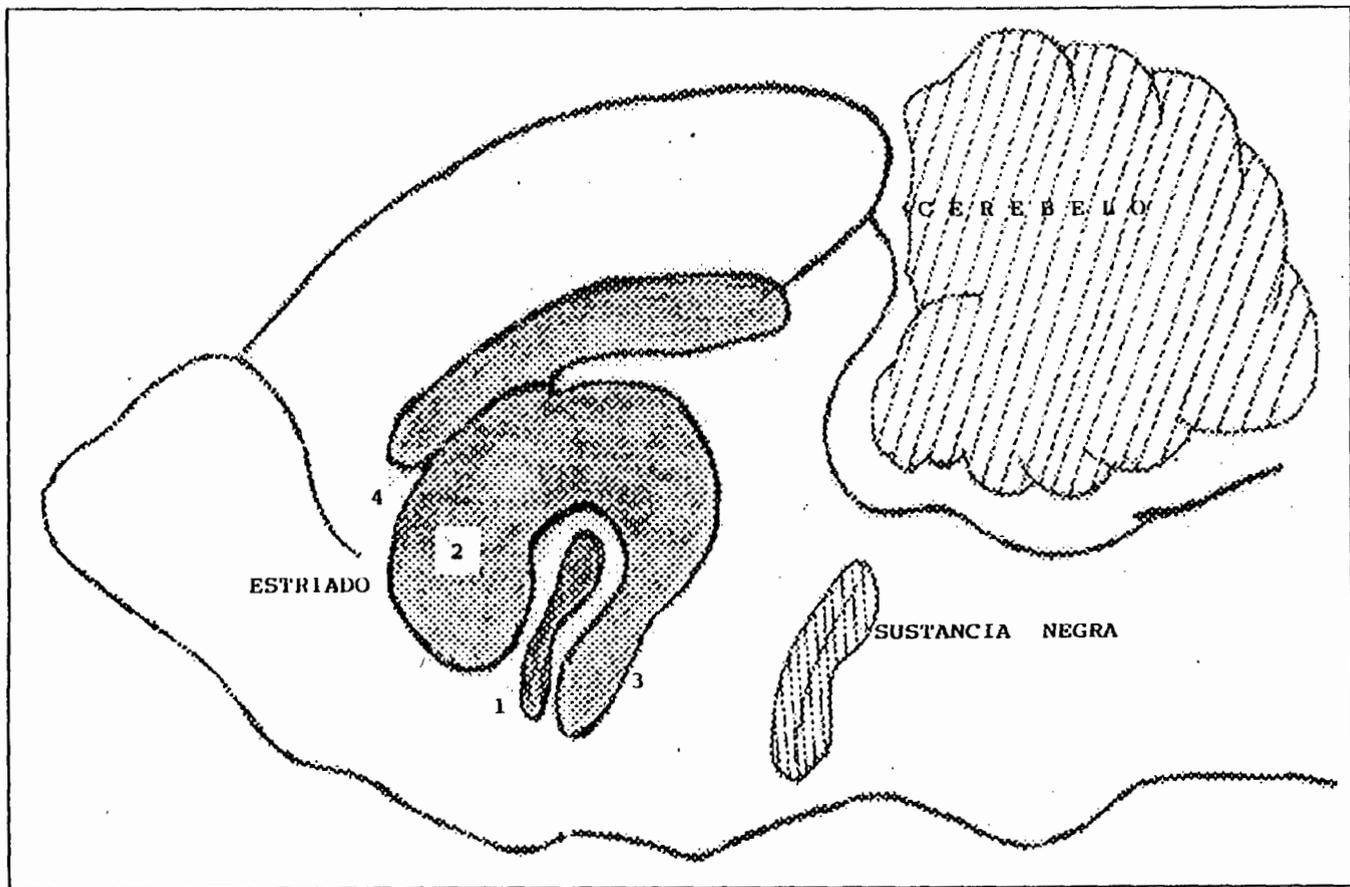
## FIGURA 1

**Ubicación neuroanatómica del cuerpo estriado**

En un corte anteroposterior de los hemisferios cerebrales se muestran los ganglios basales:

1. Claustrum
2. Núcleo Lenticular
3. Núcleo Amígdalino
4. Núcleo Caudado

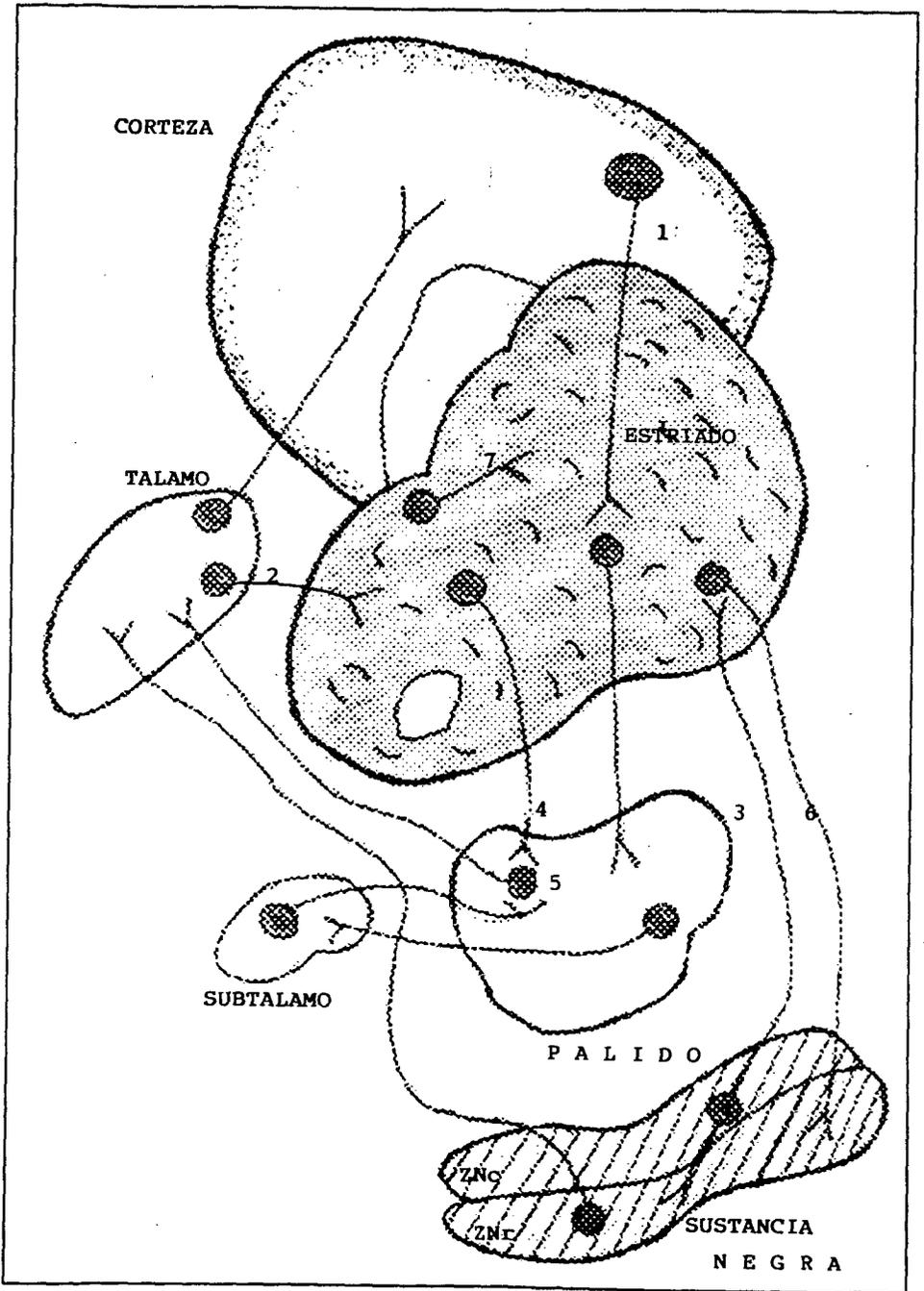
Los tres últimos constituyen el cuerpo estriado.



## FIGURA 2

**Principales conexiones y sistemas de neurotransmisión del  
cuerpo estriado**

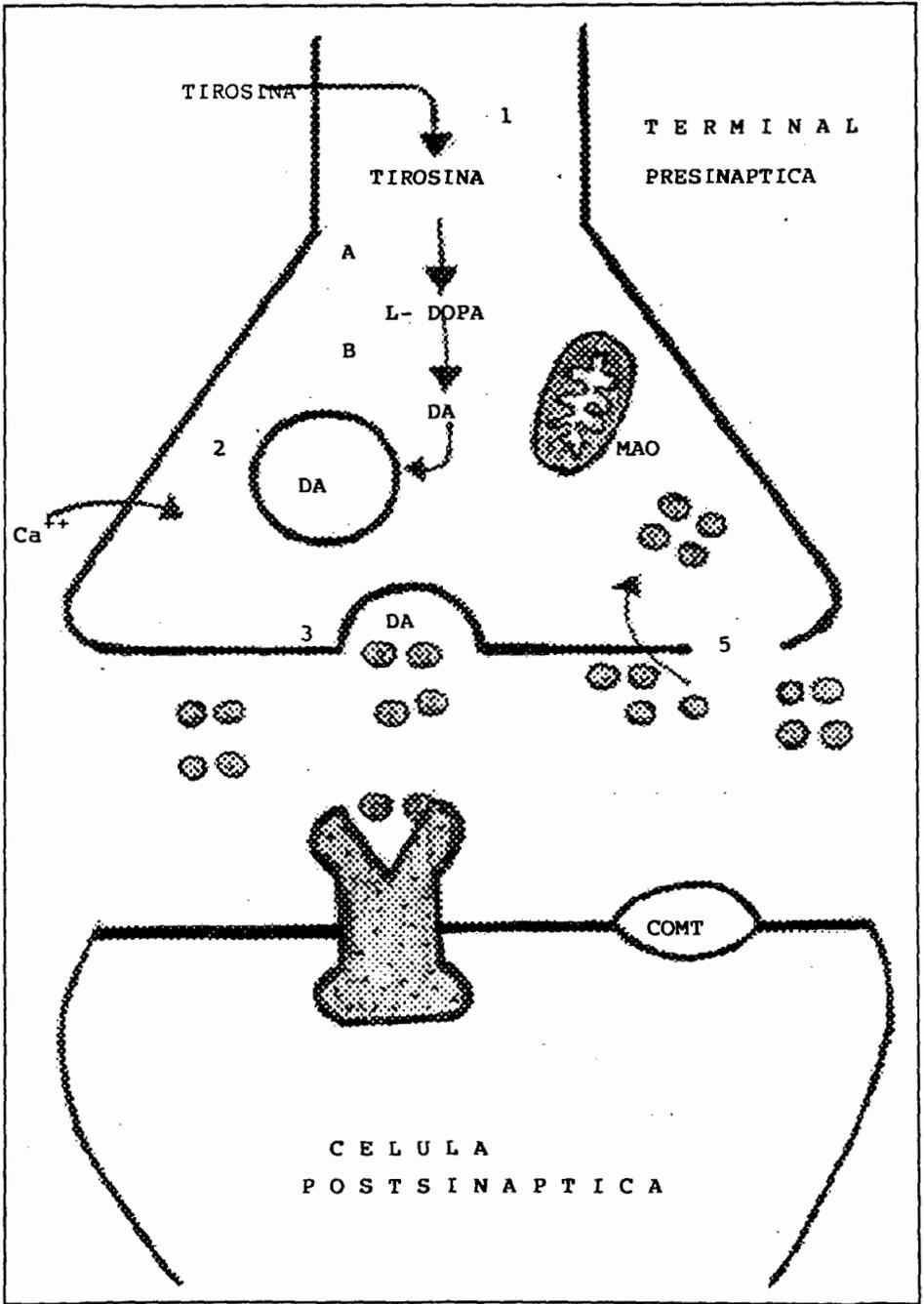
1. Conexión cortico-estriatal (Gluérgica)
2. Conexión tálamo-estriatal (Gluérgica)
3. Conexión negro-estriatal (DAérgica)
4. Proyección estriado-palidal (GABAérgica)
5. Proyección estriado-talámica (Gluérgica)
6. Proyección estriado-negral (GABAérgica)
7. Interneuronas colinérgicas (AChérgicas)



## FIGURA 3

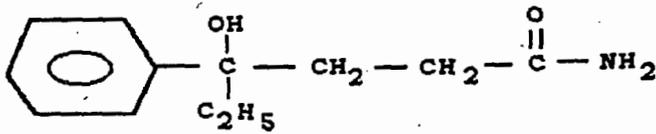
**Sinápsis DAérgica**

Se puede observar la síntesis de DA apartir de su precursor tirosina con intervención de la enzima tirosina Hidroxilasa (A) y la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (B), su almacenamiento en vesículas (2) y liberación dependiente de  $Ca^{**}$  (3). Posteriormente interacciona con el receptor postsináptico (4) ó ser eliminada del espacio intersináptico por recaptura (5).

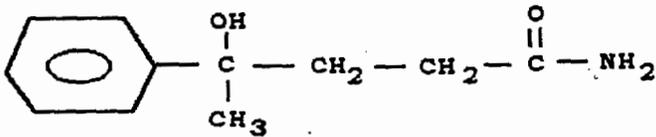


## FIGURA 4

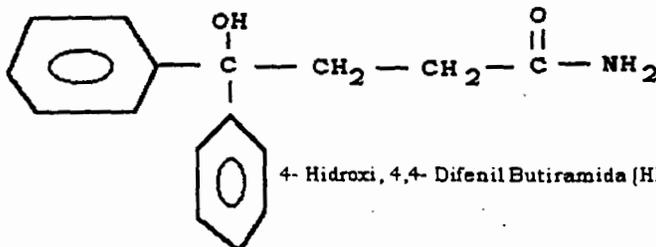
Fórmulas desarrolladas de las butiramidas que forman parte de la primera generación de anticonvulsivos sintetizados en México por el Dr. Guillermo Carvajal en 1964.



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



4-Hidroxi, 4-Metil, 4-Fenil Butiramida (HMFB)



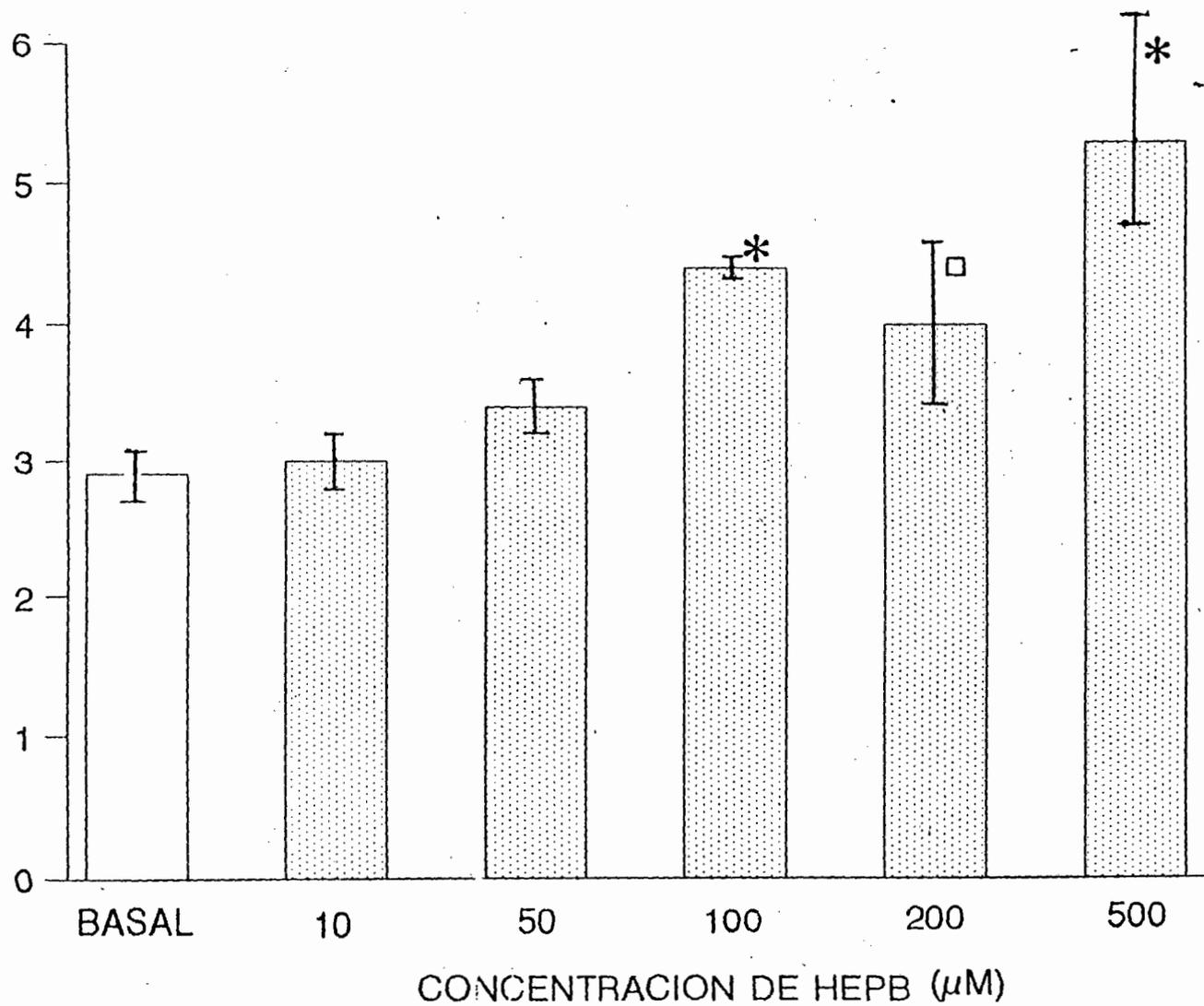
4-Hidroxi, 4,4-Difenil Butiramida (HDFB)

## FIGURA 5

Efecto del HEPB (10, 50, 100, 200 y 500 $\mu$ M), sobre la liberación espontánea de [ $^3$ H]-dopamina en rebanadas estriatales. Los resultados expresan la media  $\pm$  la desviación estandar de 5 experimentos. Las diferencias estadísticamente significativas respecto a la liberación basal fueron:

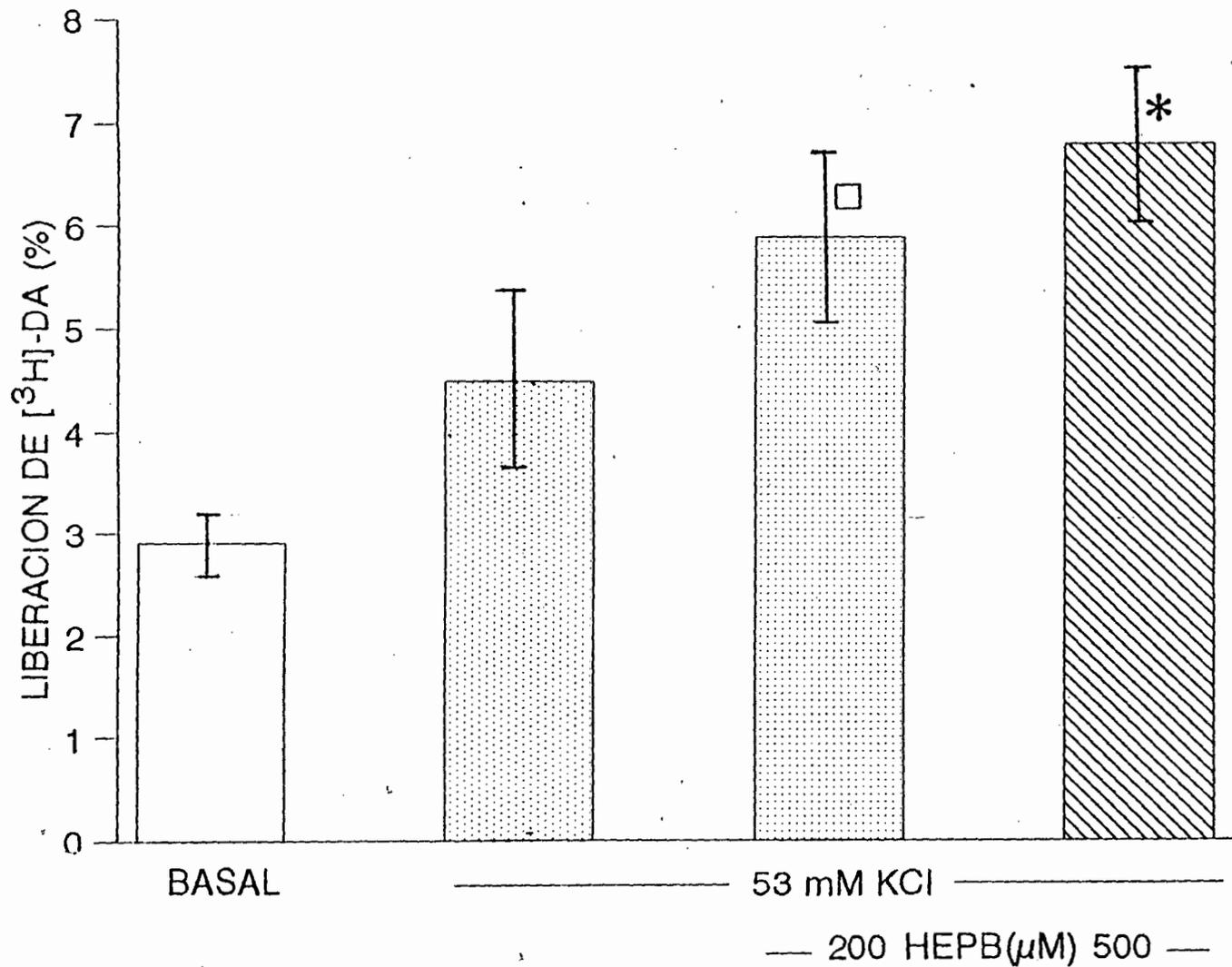
\*  $P < 0.001$ ,  $\square P < 0.05$ .

LIBERACION DE [<sup>3</sup>H]-DA (%)



## FIGURA 6

Efecto del HEPB (200 y 500 $\mu$ M), sobre la liberación estimulada de [<sup>3</sup>H]-dopamina en rebanadas estriatales. Los resultados expresan la media  $\pm$  desviación estandar de 5 experimentos. Las diferencias estadísticamente significativas respecto a la liberación testigo (Liberación con alta concentración de K<sup>+</sup>) fueron: \* P<0.001,  $\square$  P<0.05.



## FIGURA 7

Efecto de la IMB (50 $\mu$ M) en presencia de HEPB (500 $\mu$ M), sobre la liberación de DA estimulada en rebanadas estriatales. Los resultados representan la media  $\pm$  desviación estandar de 5 experimentos. Las diferencias estadísticamente significativas fueron:

HEPB 500  $\mu$ M Vs. TESTIGO

\*  
P<0.001

IMB 50  $\mu$ M Vs. TESTIGO

\*  
P<0.001

IMB + HEPB Vs. TESTIGO

\*  
P<0.001

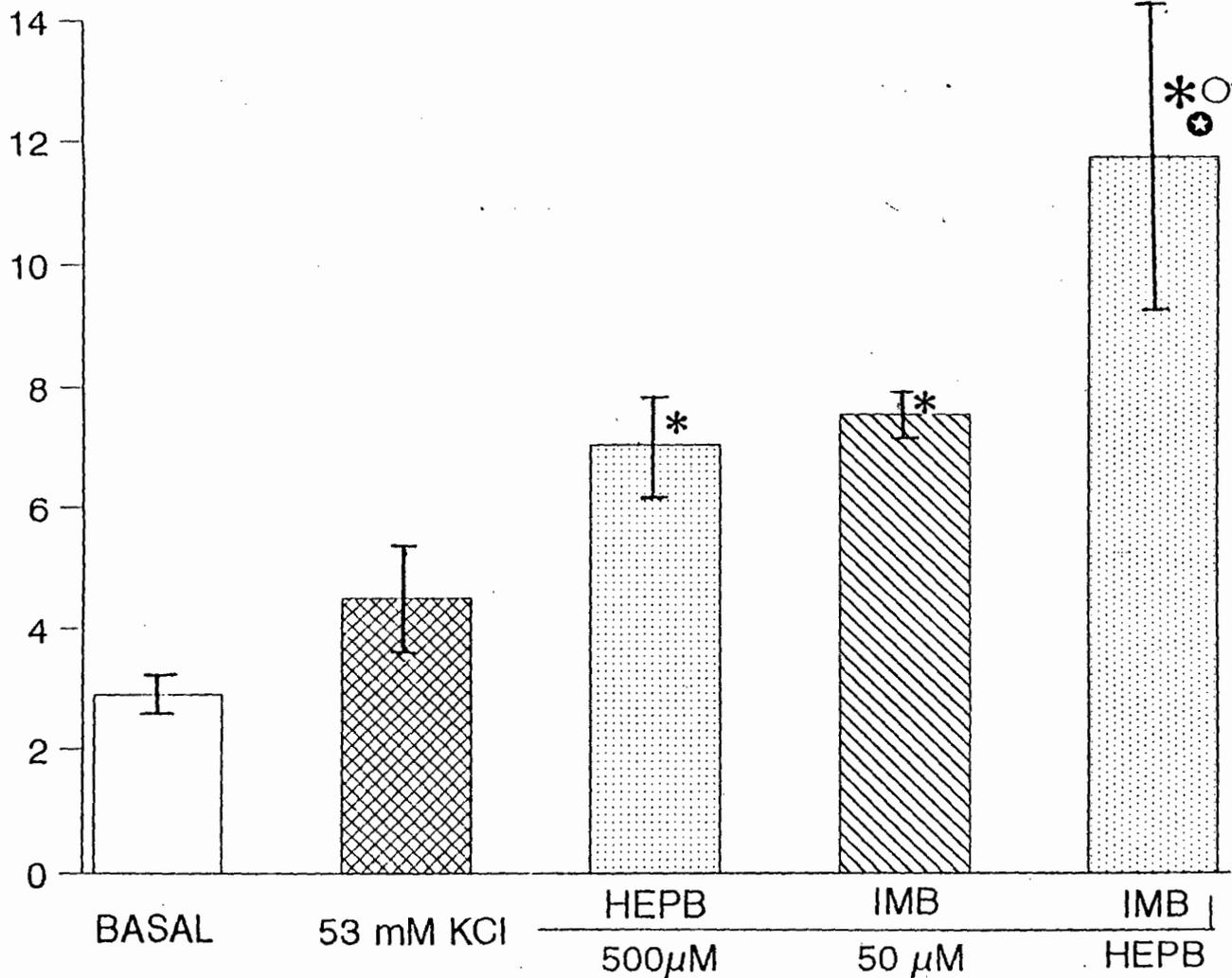
IMB + HEPB Vs. IMB 50  $\mu$ M

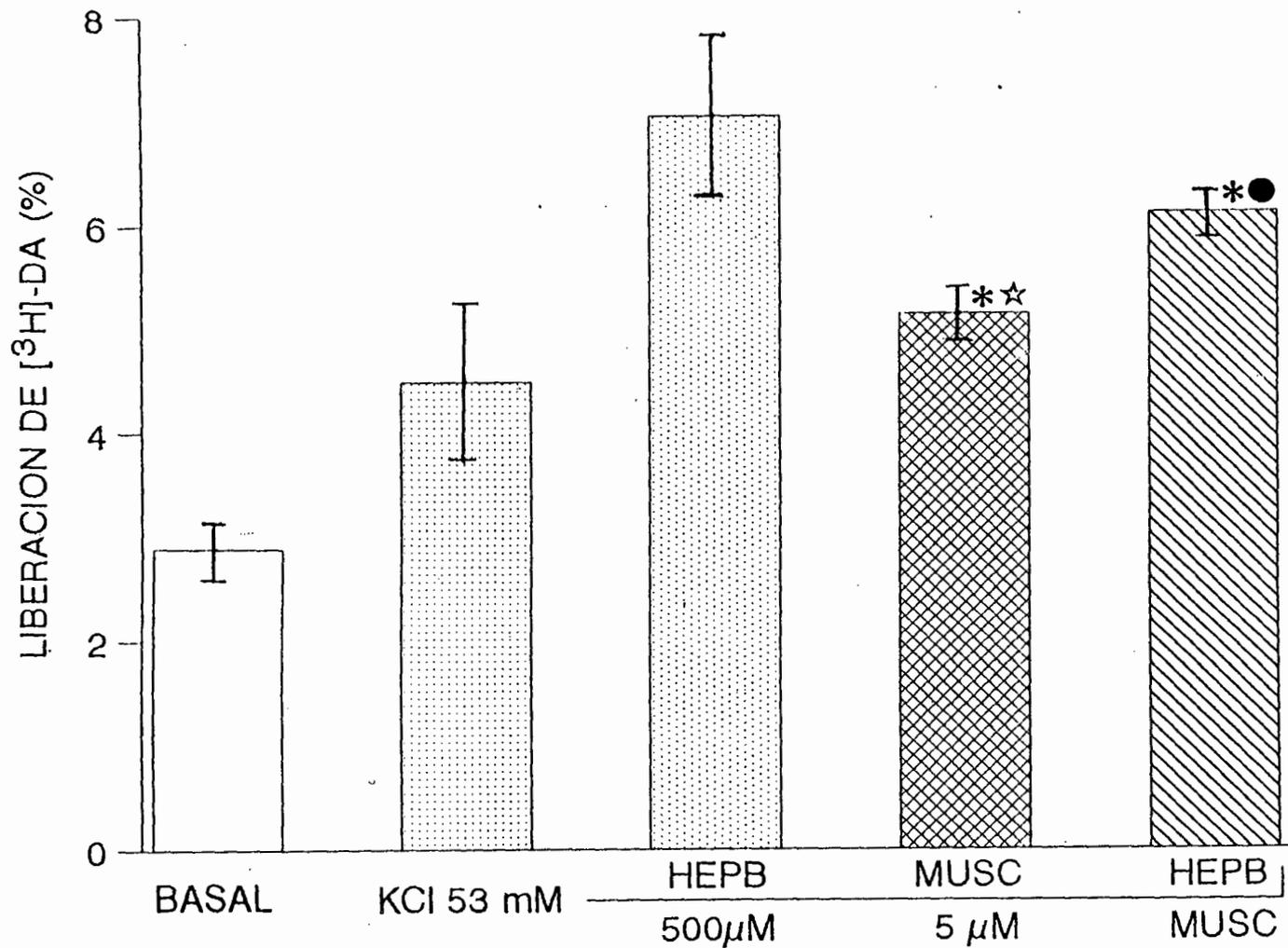
○  
P<0.01

IMB + HEPB Vs. HEPB 500  $\mu$ M

★  
P<0.005

LIBERACION DE [<sup>3</sup>H]-DA (%)





## FIGURA 8

Efecto del MUSC (5  $\mu\text{M}$ ) en presencia del HEPB sobre la liberación estimulada de [ $^3\text{H}$ ]-dopamina en rebanadas estriatales. Los resultados expresan la media y la desviación estandar de 5 experimentos. Las diferencias estadísticamente significativas:

MUSC 5  $\mu\text{M}$  Vs. TESTIGO

\* $P < 0.001$

MUSC + HEPB Vs. TESTIGO

\* $P < 0.001$

MUSC 5  $\mu\text{M}$  Vs. HEPB 500  $\mu\text{M}$

☆ $P < 0.001$

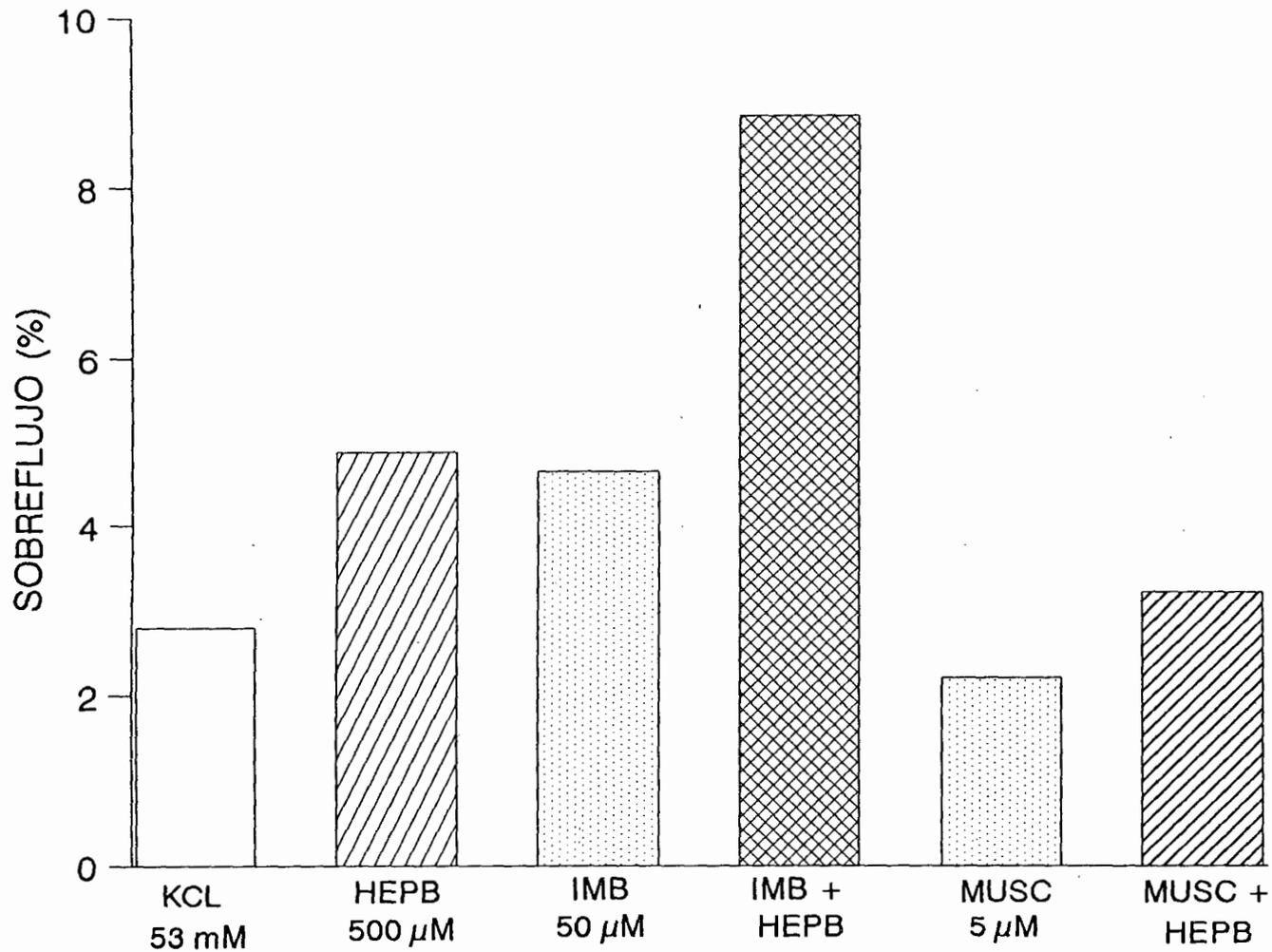
MUSC + HEPB Vs. MUSC 5  $\mu\text{M}$

● $P < 0.01$

## FIGURA 9

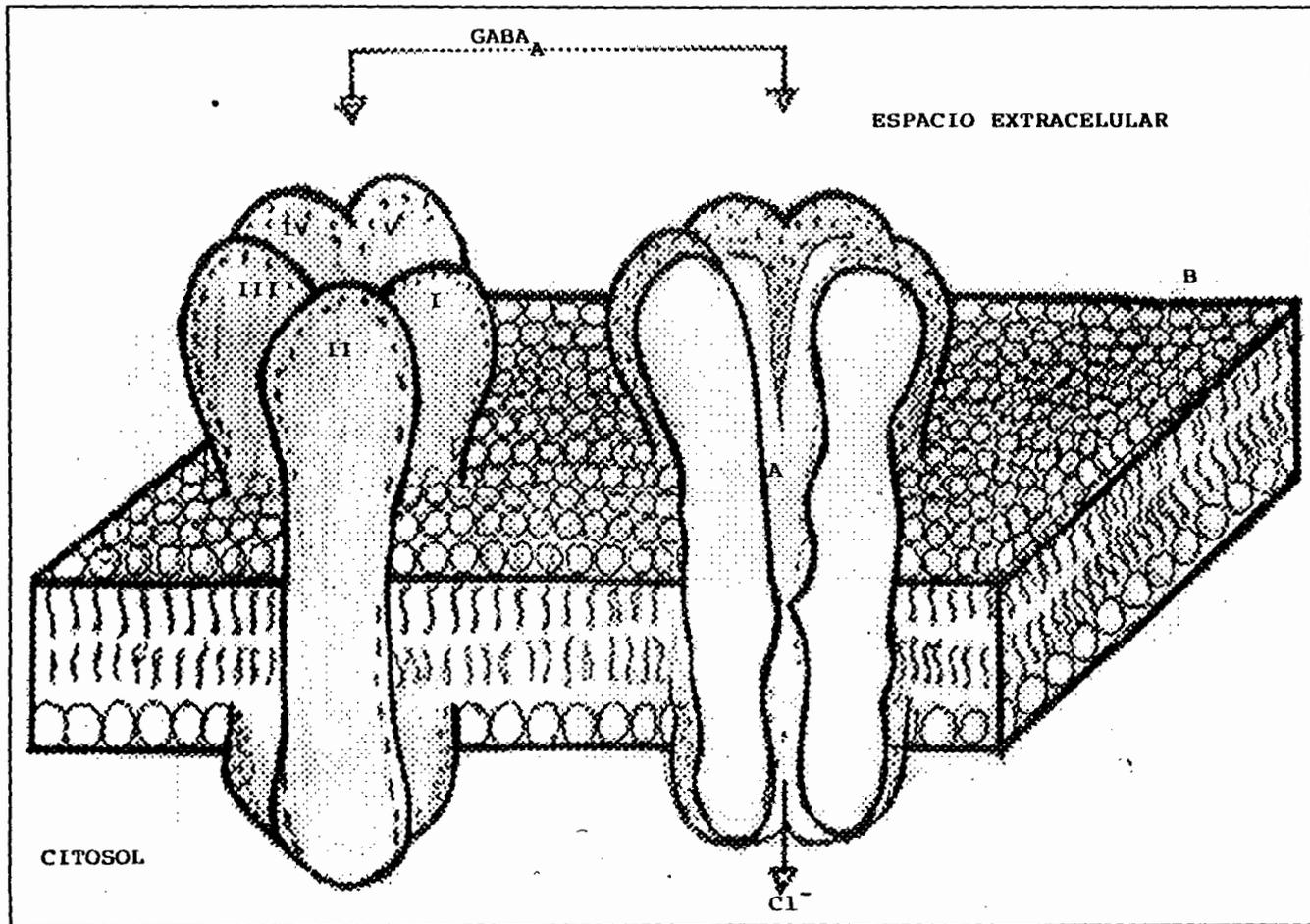
Esta gráfica muestra una comparación entre la máxima liberación por estimulación con  $K^+$  obtenida en los efectos de HEPB, IMB, IMB+HEPB, MUSC, MUSC+HEPB y TESTIGO: para lo cual se tomó el valor promedio correspondiente de la fracción número 5 y se graficó como sobreflujo considerando la liberación basal como cero.

La abcisa representa el efecto de los fármacos y la ordenada representa el porcentaje de liberación de [ $^3H$ ]-dopamina en rebanadas estriatales.



## FIGURA 10

Representación esquemática del complejo receptor GABA<sub>A</sub>-ionóforo y sus partes componentes. La porción con el número (I) indica el sitio modulador a GABA, (II) Picrotoxina, (III) Benzodiazepinas, (IV) Barbituratos, (V) Esteroides. (A) indica el Canal a Cl<sup>-</sup> y (B) Capa lipídica de la membrana.



## FIGURA 11

**Mecanismo de acción del HEPB**

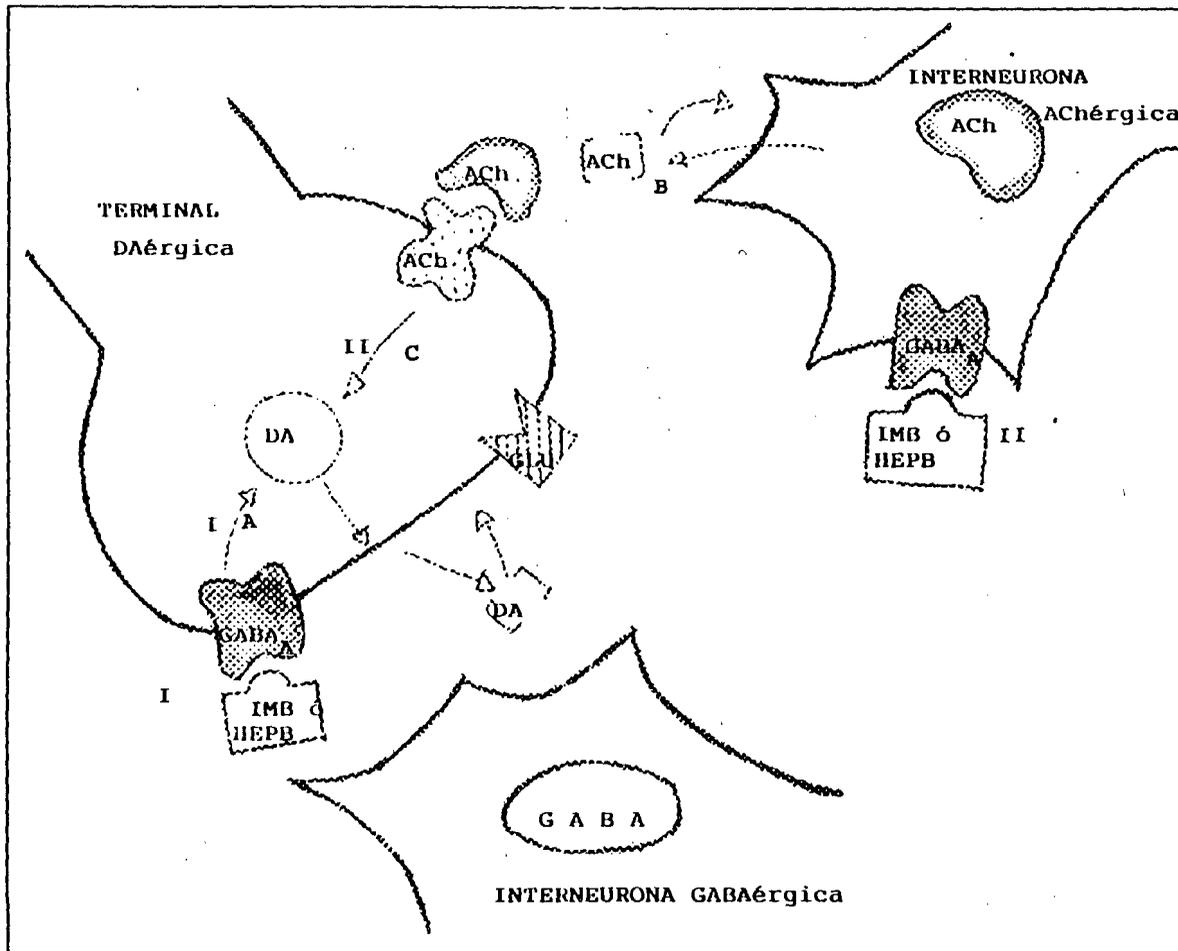
## I. Vía directa:

a) En presencia de HEPB ó IMB se libera DA.

## II. Vía indirecta:

b) En presencia de HEPB ó IMB se libera ACh

c) A su vez la ACh ejerce un efecto reflejo sobre la liberación de DA.



B I B L I O G R A F I A

1.- Baker G. B. and Dyck J. E. 1985. Neuronal transport of amines in vitro. En: **Neuromethods 2**. Humana. p.p. 458-473.

2.- Barone P., Vincenzo P., DeBartolomeis A., Tedeschi E., Muscettola G. y Campanella, G. 1991. Dopamine D1 and D2 receptors mediate opposite functions in seizures induced by lithium-pilocarpine. **Exp. Neural of Pharmacology**. 195: 157-162.

3.- Burke K., Chandler, C. J., Starr B. S. y Starr M. S. 1990. Seizure Promotion and Protection by D-1 and D-2 Dopaminergic Drugs in the Mouse. **Pharmacology Biochemistry, & Behavior**. 36: 729-733.

4.- Carvajal G. 1986. Planeación de fármacos antiepilépticos. En: Feria-Velasco, A., Martínez de Muñoz, D. y Rubio Donnadieu, F. **Epilepsia un enfoque multidisciplinario**. México. Trillas. p.p. 193-208.

5.- Carlson J. H., Bergstrom, D. A. y col. 1990. Nigrostriatal lesion alters neurophysiological responses to selective and nonselective D-1 and D-2 dopamine agonists in rat globus pallidus. **Synapse**. 5: 83-93.

6.- Cooper J. R. 1982. **The Biochemical Basis of Neuropharmacology**. 4<sup>ta</sup> edition. USA. Oxford. p.p. 202-204.

7.- Chang H. T. y Kita H. 1992. Interneurons in the rat striatum: relationships between parvalbumin neurons and cholinergic neurons. **Brain Res**. 574: 307-311.

8.- Chapman A. G. y Meldrum B. S. 1987. Epilepsy prone mice: genetically determined sound-induced seizures. **Neurotransmitters and Epilepsy**. U. S. A. Humana Press. p.p.

9-27.

9.- Chávez J. L. y Martínez de Muñoz D. 1986. Modo de acción de algunos fármacos antiepilépticos. En: Ferial-Velasco, A., Martínez de Muñoz, D. y Rubio Donnadieu, F. **Epilepsia un enfoque multidisciplinario**. México. Trillas. p.p. 19-27.

10.- Chessele M. F. 1984. Presynaptic regulation of neurotransmitter release in the brain: Facts and hypothesis. **Neuroscience**. 12 (2): 347-375.

11.- DeBoer P. Y Westerink B. H. C. 1994. GABAergic modulation of striatal cholinergic interneurons: An in vivo microdialysis study. **J. Neurochem**. 62: 70-75.

12.- DeLorey T. M., Olsen R. W. 1992. GABA A receptor structure and funcion. **J. Biol. Chem**. 267: 16747-16750.

13.- Desce J. M., Godeheu G., Galli T. y col. 1991. Presynaptic facilitation of dopamine release through D, L-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate receptors on synaptosomes from the rat striatum. **J. Pharmacol. and Exp. Ther**. 259 (2): 692-698.

14.- Ennis C. y Cox B. 1981. GABA enhancement of [<sup>3</sup>H]-dopamine release from slices of rat striatum: depedence on slice size. **Eur. J. Pharmacol**. 70: 417-420.

15.- Fairbrother I. S, Arbuthnott Gordon W., Kelly J. S., Butcher S. P. 1990. In vivo Undelying dopamine release from rat nigroestriatal terminals: I. Studies using veratrine and Ouabaina. **Journal of Neurochemistry**. 54: 1834-1843.

16.- Friedman D. L. y Redburn D. A. 1990. Evidence for

functionally distinct subclasses of GABA receptors in rabbit retina. **Journal of Neurochemistry**. 55: 1189-1199.

17.- Gerfen C. R. 1992. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. **Annual Rev. Neurosciences**. 15: 285-320.

18.- Gerfen Charles R. 1991. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. **Journal Neurosciences**. 11: 1016-1031.

19.- Goldstein D. S., Nadi N. S., Stull R., Wyler A. R., y Porter R. J. 1988. Levels of catechols in epileptogenic and nonepileptogenic regions of human brain. **Journal of neurochemistry**. 50: 225-229.

20.- Kim J. S. 1978. Transmitters for the afferent and efferent systems of the neostriatum and their possible interactions. En: *Advances in biochemical psicopharmacology*. Vol. 19. New York. Raven press. p.p. 217-233.

21.- King G. A. y Burnham W. M. 1980. Effects of d-amphetamine and apomorphine in a new animal model of petit mal epilepsy. **Psychopharmacology**. 69: 281-285.

22.- Klitenick M. A., DeWitte P., y Kalivas P. W. 1992. Regulation of somatodendritic dopamine release in the ventral tegmental area by opioids and GABA: an in microdialysis study. **J. Neurosci**. 12: 2623-2632.

23.- Lacey M. G., Mercuri N. B., y North R. A. 1988. On potassium conductance increase activated by GABA<sub>B</sub> and dopamine receptors in rat substantia nigra neurones. **J. Physiol. (Lond.)**. 5: 437-445.

24.- Laird II H. E. y Jobe P. C. 1987. The genetically Epilepsy prone rat. En: Jobe P. C. and Laird H. E. **Neurotransmitters and Epilepsy**. U. S. A. Humana press. p.p. 57-89.

25.- Lehmann J. y Langer S. Z. 1983. The striatal cholinergic interneuron: Synaptic target of dopaminergic terminals?. **Neuroscience**. 10: 1105-20.

26.- López Antúnez. 1983. Anatomía Funcional del Sistema Nervioso. 2<sup>a</sup> edición. México. Limusa. p.p. 548, 549, 551, 554.

27.- Macdonald R. L. 1983. Mechanims of anticonvulsant drug action. **Recent Advances in Epilepsy I**. U. S. A. Pedley T. A. and Meldrum B. S. p.p. 1-23.

28.- Martínez de Muñoz, D. 1986. Modo de acción de algunos fármacos antiepilépticos. En: Feria-Velasco, A. Martínez de Muñoz, D. y Rubio Donnadieu, F. **Epilepsia un enfoque multidisciplinario**. México. Trillas. p.p. 140-167.

29.- Maynert E. W., Marczynski T. J. y Browning, R. A. 1975. The role of neurotransmitters in the epilepsies. **Adv. Neurol.** 13:79-147.

30.- McKenzie G. M. and Soroko F. E. 1972. The effects of apomorphine, (+)-amphetamine and L-DOPA on maximal electroshock convulsions-a comparative study in the rat and mouse. **J. Pharm. Pharm.** 24: 696-701.

31.- Meldrum B. S. 1992. Novel Antiepileptic Drugs- Relations with Neurotransmitter Mechanisms Underlying Frontal Epilepsies. **Advances in Neurology**. 57: 635-641.

32.- Noback C. R. y Demarest R. J. 1980. **Sistema**

**Nervioso Humano**. Madrid. McGrawHill. p.p. 6, 198,199.

33.- Oertel W. H., Riethmuller G., Mugnaini E., Schmechel D. E., Weindl A., Gramsch C., y Herz A. 1983. Opioid peptide-like immunoreactivity localized in GABAergic neurons of rat neostriatum and central amygdaloid nucleus. **Life Sci.** 33: 73-76.

34.- Oliver Valérie. 1992. The potassium potentiated marcadely/The effect of veratrin on release of dopamine in striatum slices. **J. Pharm. Pharmacol.** 44: 61-63.

35.- Olney J. W., Zorumski C. F., Stewart G. R., Price M. T., Wang, G. y Labruyere J. 1990. Excitotoxicity of l-Dopa and 6-OH-DOPA: Implications for Parkinson's and Huntington's diseases. **Experimental Neurology**, 108: 269-272.

36.- Pacheco M. F., Velasco R. y Flores, A. M. 1990. Efecto electrofisiológico comparativo del HEPPB y sus homólogos inferiores: HEPP y HEPA. **Memorias del congreso de neurociencias (CINVESTAV)**.

37.- Pintor M., Mefford I. N., Hutter I. y Pocotte S. L. 1990. Levels of Biogenic Amines, their Metabolites, and tyrosine hydroxylase activity in the human epileptic temporal Cortex. **Synapse**, 5: 152-156.

38.- Reiman W., Zumstein A., y Starke K. 1982. GABA can both inhibit and facilitate of the rabbit. **J. Neurochem.** 39: 961-969.

39.- Reisine T. D., Chesselet M. F., Lubetzki C. y col. 1982. A role from striatal beta-adrenergic receptors in the regulation of dopamine release. **Brain Research**. 241: 123-130.

40.- Romero, Mario. 1991. Efecto del 4-Hidroxi, 4-Etil, 4-Fenil Butiramida (HEPB), sobre la concentración de Catecolaminas en cerebro de ratón. **Tesis (Lic. en Biología) Fac. Ciencias Biológicas. U. de G.**

41.- Ronken E., Van Muiswinkel F. L., Mulder A. H., y Schoffemeer A. N. M. 1993. Opioid receptor-mediated inhibition of evoked catecholamine release from culture neurons of rat ventral mesencephalon and locus coeruleus. **Eur. J. pharmacol.** 230: 349-355.

42.- Seyfried T. N. and Glaser G. H. 1985. A review of Mouse Mutants as Genetic Models of Epilepsy. **Epilepsia.** 26 (2): 143-150.

43.- Shephard R. A, Toal L. y Leslie J. C. 1990. Effects of agonist and antagonists at the GABA/Benzodiazepine receptor on conditioned suppression in rats. **Pharmacol Biochem Behav.** 36 (1): 39-43.

44.- Siegel G. J. 1989. **Basic Neurochemistry**, USA. Raven Press. p.p. 2343-45.

45.- Stoof J. C. y Kebabian J. W. 1982. Independent in vitro regulation by the D2 dopamine receptor of dopamine-stimulated efflux of cyclic AMP and K<sup>+</sup> stimulated release of acetylcholine from rat neostriatum. **Brain Res.** 250: 263-70.

46.- Turski L., Cavalheiro E. A. y Bortolotto Z. A. 1988. Dopamine-sensitive anticonvulsant site in the striatum. **J. Neurosci.** 8: 4027-4034.

47.- Twyman R. E., Macdonald R. L. 1991. **Antiepileptic drug regulation of GABA<sub>A</sub> receptor channels.** En: G.

Tunncliffe, B. U. Raess. New York. Wiley Liss. p.p 89-104.

48.- Warter J. M. y Vergnes, M. 1988. Effects of drugs affecting dopaminergic neurotransmission in rats with spontaneous Petit Mal-Like Seizures. *Neuropharmacology*, 27: (3): 269-274.

49.-Westfall T. C. 1982. Inhibition of the electrically induced release of [<sup>3</sup>H]-dopamine and serotonin from superfused rat striatal slices. *Neurosci. Lett.* 28: 205-209.