

86 - 90 B

82547673

Universidad de Guadalajara

Facultad de Ciencias Biológicas



Valoración de la Actividad Anticonvulsionante
del Borneol en Rata Wistar

Tesis Profesional

para obtener el Título de

Licenciado en Biología

Presenta:

César Arnulfo Álvarez Leyva

Guadalajara, Jal. 1992

U N I V E R S I D A D D E G U A D A L A J A R A

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

VALORACION DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DEL
BORNEOL EN RATA WISTAR

TESIS PROFESIONAL
Que para obtener el título de Licenciado en Biología

PRESENTA
César Arnulfo Álvarez Leyva

DIRECTOR DE TESIS
Alicia Navarro Ruiz



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección

Expediente

Número

EL CATEDRÁTICO ANTONIO GONZÁLEZ LEYVA
CATEDRÁTICO

... para con esta fecha de
... VALORACION DE LA ACTIVIDAD ANTI
COMISIONARIA DE EXAMENES ... para obtener la Licenciatura en
Biología.

... para con esta fecha de
... para obtener la Licenciatura en
Biología.



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA."
DR. JOSÉ GUADALUPE ZUÑO HERNÁNDEZ
Guadalajara, Jalisco, 18 de octubre de 1981.
EL DIRECTOR

DR. ENRIQUE GONZÁLEZ DE LA GARZA

EL CATEDRÁTICO

DR. ENRIQUE GONZÁLEZ DE LA GARZA

... de la M. C. ...
... del ...
...

Al contestar este oficio cítese fecha y número



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA DE OCCIDENTE
DIVISION DE BIOQUIMICA FARMACOLOGICA

Guadalajara, Jal., a 18 de Febrero de 1992.

M.C. CARLOS BEAS ZARATE
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E

Por este conducto me permito someter a la honorable Comisión de Tesis, el Trabajo: VALORACION DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE BORNEDL, que presenta el C. César Arnulfo Alvarez Leyva, para obtener el grado de Licenciatura en Biología.

Asimismo, manifiesto la aprobación particular de esta Tesis, esperando su autorización para la impresión de la misma.

Sin otro particular, agradezco de antemano su atención.

Atentamente
Seguridad y Solidaridad Social

M.C. ALICIA NAVARRO RUIZ
Invest. Div. Bioq. Farmacol. UIBO

ANR/msg.

DEDICATORIA.

A la vida por permitirme realizarme como lo que soy y mostrarme que se tiene que perseverar para llegar al fin del camino elegido; enlazado con un hecho que pone en tela de juicio todas nuestras concepciones y el sentido mismo de nuestra vida y por eso la filosofía del progreso pretende escamotearnos su presencia llamada "muerte".

"Te quiero, oh Vida, por la Muerte".

AGREDECIMIENTOS.

A MIS PADRES

Como simbolo de fortaleza, cariño y admiración por el ejemplo brindado, y por todo el apoyo que en la vida me han dado, sacrificando incluso parte de ustedes mismos.

A MIS ABUELOS

Por sus sabios consejos; se que no los defraudare.

A MIS TIOS CATARINO Y AURORA

A los cuales no tengo palabras para agradecerles todos los innumerables esfuerzos que han hecho para la culminación de mis estudios.

A MIS MAESTROS

Por la enseñanza y sabiduría trasmitida sin ningún celo profesional.

A MIS AMIGOS

Que de una u otra manera siempre me han apoyado en los momentos más difíciles de mi vida.

Este trabajo de tesis fué realizado en la DIVISION DE
BIOQUIMICA FARMACOLOGICA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIONES
BIOMEDICAS DE OCCIDENTE, Instituto Mexicano del Seguro
Social bajo la dirección de la M en C. Alicia Navarro Ruiz;
con la asesoría del Dr. Pedro Garzón de la Mora; asimismo
agradeciendo la participación de mis amigos. M en C. Joaquin
García Estrada* Biol. Jorge R. Dominguez Rodriguez* Lab.
Ángelica González Ballesteros* Biol. Claudia Felix Beltran*
QFB. Sonia Luquín*

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA (JUSTIFICACION)	10
ANTECEDENTES	12
EPILEPSIAS. CLASIFICACION Y MANIFESTACIONES DE LAS CRISIS EPILEPTICAS. CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DE BORNEOL	
HIPOTESIS	23
OBJETIVOS	24
MATERIALES Y METODOS	25
MATERIAL BIOLÓGICO. MATERIAL QUÍMICO. EQUIPO. METODOS (ELECTROESTIMULACION SUPRAMAXIMA).	
DISEÑO EXPERIMENTAL	28
RESULTADOS	30
DISCUSION	43
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFIA	48

INCIDICE DE ABREVIATURAS

C. edulis.....	Casimiroa edulis.
CISE.....	Clasificación Internacional de Síndromes epilépticos.
CTCG	Crisis Tónico-Clónica Generalizada.
DE44	Dosis efectiva 44% .
DE50	Dosis efectiva 50% .
DFH-Na	Difenilhidantoinato sodico.
DL50	Dosis letal 50% .
DREMP	Duración del reflejo de los miembros posteriores.
DT50	Dosis tóxica 50% .
EESM	Electroestimulación supramáxima.
EESM +	Electroestimulación supramáxima positivo.
EEG	Electroencefalograma.
Fen	Fenobarbital.
Fig	Figura.
MECE	Modelos Experimentales de Crisis Epileptiformes.
Met sc	Metrazol subcutaneo.
Met sc +	Metrazol subcutaneo positivo.
Mg/kg	Miligramo por Kilogramo de peso.
PG	Propilenglicol.
PP	Porcentaje de protección.
SNC	Sistema Nervioso Central.
T1	Tiempo de latencia.

VALORACION DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE BORNEOL
EN RATA WISTAR

RESUMEN

En el presente estudio se valoró la acción anticonvulsionante del borneol a la electroestimulación supramáxima (EESM) en rata wistar; determinándose el porcentaje de protección (PP), tiempo de latencia (T1), duración del reflejo extensor de los miembros posteriores (DREMP), a dosis logarítmicas de 10, 100, y 1000 mg/kg de peso. El borneol se administró oralmente en una sola toma para cada una de las dosis. La EESM se aplicó previamente a la 1a, 2a, 3a, 4a, 5a, 6a, 7a, 8a hora, posterior a su administración de borneol. Dos antiepilépticos difenilhidantoinato sodico (DFH-Na) y Fenobarbital (Fen) a dosis de 20 mg/kg y 12 mg/kg de peso respectivamente se valoraron como control de respuesta a la EESM; así como el vehículo propilenglicol (PG) en volumen proporcional a dosis de 0.5 ml de borneol.

En la EESM previo correspondió un PP = 0, T1 = 2.77 ± 0.59 , DREMP = 9.03 ± 0.47 . Con el borneol el PP máximo a EESM se observó a dosis de 1000 mg/kg de peso; manifestada, a la tercera y cuarta hora de estudio con una cifra correspondiente del 44%; T1 = 3.8 ± 1.09 , DREMP = 7.6 ± 1.51 . Sin embargo se encontró que a dosis de 100 mg/kg a la quinta hora es más significativo para los valores de la prueba de EESM (T. Incorporación, T. de recuperación, Duración del reflejo).

En los controles se observó que el DFH-Na presentó un PP a EESM progresiva, manifestándose desde la 2a hora hasta llegar a un máximo de 80% a la 8a hora de estudio. El Fen presentó un porcentaje uniforme de protección de 92% a la 6a hora de estudio; y finalmente el control vehículo PG presentó fluctuaciones de respuesta desde la primera hasta la octava hora, con un PP de 0 - 10 % a la EESM.

Por lo tanto el borneol se puede considerar como un posible candidato a anticonvulsionante; no sin antes mencionar que se debe valorar en otros modelos de crisis epileptiformes, principalmente la de pentilene tetrazol; ya que ambas pruebas (EESM) constituyen la fase inicial de tamizaje Anticonvulsionante, dentro del programa de desarrollo de nuevos fármacos Antiepilépticos.

INTRODUCCION

"Las epilepsias" constituyen una variedad de diversos síndromes caracterizados por diferentes tipos de crisis, etiología, edad de aparición y características del electroencefalograma (1). Estas se caracterizan por la recurrencia y aparición repentina de crisis convulsivas ó no convulsivas; acompañadas ocasionalmente de una pérdida del estado de conciencia. Lo anterior coincide con una activación hipersincrónica focal o generalizada de una población de neuronas (1,2). Estas son manifestaciones comunes tanto de síndromes como de entidades nosológicas del S.N.C. y/o sistémicas con repercusión en el mismo.

Actualmente las epilepsias son un problema médico y social importante de la humanidad; debido a su alta prevalencia que oscila entre 3.6 a 19 por cada 1000; con un promedio de 5/1000 habitantes y una incidencia promedio de 1%, es posible calcular la presencia de 50 millones de nuevos pacientes epilépticos en el mundo por año (3,4).

Etimológicamente, la palabra epilepsia (epilambaneim) significa "ser sobrecogido bruscamente" o "tomar posesión de". Dicha expresión refleja la idea, que todavía persiste en algunas sociedades primitivas y predominó en Europa hasta el siglo XVIII, en su expresión coincide con los síntomas

raros frecuentemente observados en los enfermos epilépticos durante la fase ictal (5). Consecuentemente no resulta extraño que las epilepsias hubiesen recibido nombres tales como: morbus divines o lúes deifica. Asimismo, no resulta extraño que desde hipócrates se haya insistido en borrar esta creencia del carácter sobrenatural de la epilepsia; sin embargo, por temor e ignorancia, hasta la fecha, el enfermo epiléptico aún es objeto de discriminación en nuestra sociedad (6).

Hipócrates escribió un libro acerca del "mal sagrado", con el propósito de eliminar prejuicios y demostrar lo erróneo de este carácter de la enfermedad.

Así, las epilepsias pasaron de conjeturas sobre el origen sobrenatural hacia un razonamiento sobre su etiopatogenia, susceptible de ser analizada y controlada por el hombre. En su libro describe el tratamiento de las epilepsias, a base de numerosos remedios, para los cuales, inclusive existían reglas, aparentemente ingenuas, pero lógicas. En cambio otras simplemente fueron el resultado de los ritos mágicos de la época (7). A los pacientes epilépticos se les prohibían los "baños", algunos peces, carnes (especialmente la de cabra), uso de ropa negra, tocar la piel de cabra, así como el cruzar las manos o los pies. Posiblemente la más atroz de las descripciones de aquellos tiempos fué la utilización de sangre humana, desde el siglo V a.c. y se prolongó hasta la época del Imperio

Romano, cuando los enfermos bebían la sangre que manaba de las heridas de los gladiadores. También se menciona que el muérdago recogido durante la luna nueva, sin la ayuda de un instrumento de hierro, podía curar la epilepsia si no había tocado la tierra. Además se usaron amuletos vegetales, tales como la peonia y la mandragora. Estos fueron presentados en forma casi científica por Galeno, quien afirmaba que, usados como amuletos, eran capaces de liberar de las convulsiones a los niños (7).

Los estudios dirigidos al esclarecimiento de las bases etiopatogénicas de las epilepsias, se iniciaron en la parte final del siglo XIX con las investigaciones clásicas de John Hughlings Jackson. Estas hicieron posible proponer que las convulsiones (una de las manifestaciones de las epilepsias) eran causadas por descargas ocasionales, súbitas, imprevistas, rápidas y locales procedentes de la materia gris y, que una convulsión generalizada surge cuando el tejido cerebral normal es invadido por la propagación de la actividad eléctrica anormal iniciada en el foco epileptogénico (8). Lo anterior condujo a considerar las epilepsias como un trastorno disrítico del cerebro, de carácter hereditario o adquirido por daño en alguna porción del mismo. Así, alguna herida, casos de traumatismo craneoencefálico pueden conducir al desarrollo de epilepsias, las cuales también son causadas por: 1) accidentes vasculares cerebrales, 2) infecciones, (meningitis, encefalitis y

abscesos), 3) malformaciones vasculares, y tumores benignos o malignos. Una crisis epiléptica puede presentarse al inicio del daño encefálico; sin embargo, es posible que lo mismo suceda después de haber transcurrido meses o años del trastorno cerebral inicial. Además las manifestaciones de una crisis dependen de la edad y el comportamiento (activo, despierto, dormido, etc) del sujeto (9).

Una vez realizado el diagnóstico de epilepsia ó de algún síndrome epiléptico, independientemente del grado de conocimiento actual acerca de su etiopatogenia; es necesario utilizar fármacos antiepilépticos para el control de las crisis. Los cuales durante la fase preliminar de ensayos en animales, estos compuestos se reconocen con el nombre de "ANTICONVULSIONANTES" debido al uso de modelos experimentales de crisis epiléptiformes en animales para inducción de convulsiones (9), en los cuales habitualmente se procura que los compuestos motivo de ensayo deben inhibirlas durante la fase experimental. Un compuesto que después de cubrir las fases de ensayo experimental en animales y clínica en pacientes epilépticos, recibe el nombre de medicamento "ANTIEPILEPTICO". De esta manera, queda implícito que un medicamento antiepiléptico es capaz de inhibir la actividad de un foco epileptogénico primaria o secundariamente generalizado y/o la difusión de una corriente eléctrica despolarizante en otros tejidos, como sucede en las disritmias cardiacas en el humano (10).

Consecuentemente, en general, los medicamentos antiepilépticos elevan el umbral de excitabilidad encefálica en condiciones de funcionamiento normal e inhiben las descargas cerebrales anormales a través de ejercer efectos sobre:

1) Neuronas patológicamente alteradas en el foco epileptogénico para prevenir su descarga excesiva.

2) Lesiones no neuronales isquémicas a través de una normalización del aporte sanguíneo al foco cortical generador de las crisis, y

3) Neuronas normales para prevenir su descarga potencialmente inducible desde el foco generador de ondas anormales de propagación del impulso nervioso (11).

En la actualidad existen varios medicamentos antiepilépticos sintetizados químicamente y clasificados de acuerdo a la estructura química de la cual derivan; así de las hidantoínas, proceden el difenilhidantoinato de sodio (DFH-Na), fenobarbital y primidona. Del núcleo de las sulfas la acetazolamida; la carbamazepina del iminoestilbeno; el ácido valproico es un ácido graso ramificado de seis carbonos. La estructura básica 5-fenil-1-benzodiazepinas brinda origen al diazepam, clonazepam, fluorazepam entre otros, los cuales se utilizan como fármacos secundarios para

inhibir crisis epilépticas de difícil control (12). Cada medicamento antiepiléptico presenta un espectro de acción limitado; por lo mismo se hace necesario el uso de polifarmacoterapia para el control de epilepsias. Además, la necesaria utilización del medicamento antiepiléptico durante periodos prolongados, que en algunos pacientes involucra el resto de su vida, hacen manifiesto numerosos efectos colaterales indeseables.

La búsqueda de nuevos compuestos con actividad anticonvulsionante se dirige predominantemente hacia el hallazgo de estructuras químicas diferentes a las conocidas hasta el presente, con la particularidad de que estas sean capaces de cubrir las siete fases convencionales de tamizaje ANTICONVULSIONANTE ; bien sea que procedan de un diseño molecular relacionado con la estereoisomería de los fármacos conocidos con la estereoisomería de los sitios receptores o bien de compuestos vinculados con la estructura de neurotransmisores inhibitorios . Menos común e igualmente importante es el enfoque consistente en identificar principios activos ANTICONVULSIONANTES en plantas medicinales, de los cuales puedan surgir constituyentes químicos nuevos como fué el caso del eugenol; el cual procede de la planta medicinal Licaria puchuchury major y su efecto sobre SNC le permite actuar como compuesto ANTICONVULSIONANTE . El eugenol por ser químicamente diferente a los medicamentos antiepilépticos convencionales,

constituye un ejemplo que indica la posibilidad de obtener nuevos núcleos químicos de compuestos anticonvulsionantes y por lo tanto antiepilépticos, los cuales, una vez identificados no sería prudente, ni costeable extraerlos de vegetales, si no a través de métodos de síntesis química, para proveerlos en la escala necesaria de consumo terapéutico .

Por sus principios activos las plantas medicinales constituyen modelos importantes de investigación farmacológica, ya que las sustituciones y modificaciones químicas de las moléculas obtenidas de plantas medicinales, han permitido incluir en el arsenal terapéutico uno de cada cinco de los medicamentos actualmente en uso. A este respecto cabe citar, los analgésicos locales, cuya diversidad tiene su origen en la molécula de la cocaína; medicamentos contra la hipertensión, derivados de alcaloides de la Rauwolfia; digitálicos; hormonas; antineoplásicos etc.(13).

En un reporte reciente sobre familias, géneros y, especies de plantas medicinales que tienen efecto sobre SNC, principalmente anticonvulsionantes; se encontro que los 53 géneros y especies descritas pertenecen a 35 familias. Entre los 53 generos y especies, en 19 se han comprobado la acción anticonvulsionante en hidrolados, extractos acuosos y aceites esenciales, a diferencia de los 34 restantes que

contienen alcaloides, flavonoides, terpenos entre otros compuestos con acción inhibitoria de crisis inducidas química o eléctricamente en animales de experimentación. Luego entonces, el enfoque farmacológico de obtención de nuevos compuestos antiepilépticos a partir de plantas medicinales es racional y promisorio. Por otra parte, ninguna de las estructuras de medicamentos antiepilépticos actualmente en uso aparece en el mencionado reporte(14).

Entre los terpenos derivados de acetogeninas encontramos el borneol, canfor con acción analéptica y con estabilidad acentuada por el grupo metileno intra-anillo. Este compuesto existe en numerosas plantas pero llama la atención su presencia en la Valeriana, planta medicinal comunmente utilizada como sedante. Por esta razón se considera al borneol como un posible candidato para ser sometido a tamizaje Anticonvulsionante

JUSTIFICACION

Se ha comprobado que el difenilhidantoinato de sodio (DFH-Na), carbamazepina (CBZ), Fenobarbital (Fen), primidona (pmd) Etosuccimida (ETX), acetazolamida (ACM), vigabatrim (VBT) y ácido valproico (VPA), son antiepilépticos eficaces para el control de algún tipo de crisis, los cuales por el tejido donde actúan (SNC), catabolismo (Higado), depuración, (Riñon) manifiestan efectos colaterales propios, bien sea de carácter idiosincrático (15), que sugieren la necesidad de disponer de fármacos efectivos y menos tóxicos. Por otra parte, en estudios multicéntricos, se observó que del 20-30% de todos los pacientes con diagnóstico reciente de crisis epilépticas, no son controlables con uno o dos medicamentos utilizados a dosis óptimas. Además, en la población general epiléptica: 36% presenta más de una crisis por mes (16), 21% presenta crisis frecuentes y el 3% no se controlan (17). A lo anterior se agrega la "resistencia" a los medicamentos antiepilépticos según los diferentes síndromes; a saber: crisis convulsivas generalizadas (14%); crisis parciales convulsivas (14%), epilepsias mioclónicas juveniles (20%); crisis parciales simples (3%) y complejas (29%) respectivamente (18).

Por lo anteriormente indicado , se infiere que es necesario aportar nuevos recursos terapéuticos para el control de las epilepsias; ya sea a través de ensayos de extractos acuosos orgánicos así como a partir de principios activos de plantas medicinales aisladas, compuestos químicamente puros, tanto por métodos de síntesis química, modificación de estructuras químicas, sustitución de diferentes radicales y/o grupos funcionales a antiepilépticos conocidos.

ANTECEDENTES

Actualmente, es posible clasificar las epilepsias según la causa (idiopática, genética o sintomática), tipo de crisis y datos EEG bien sea de carácter parcial o generalizado. Desde el punto de vista anatómico las crisis pueden iniciarse en: lóbulos frontal, parietal, occipital, o temporal. Además, es posible clasificarlas de acuerdo algunos factores precipitantes; la edad; así como ciertas influencias diurnas como sucede en las epilepsias mioclónicas progresivas; por tabaquismo, entre otras. Las crisis epilépticas, fundamentalmente se dividen en dos grupos: parciales y generalizadas (19,20). Las crisis parciales tienen evidencia clínica o EEG de un inicio local, sin embargo, la palabra parcial no implica que este foco sea altamente discreto, aún cuando este foco a menudo no existe. Las descargas anormales generalmente se originan en una porción del hemisferio y de ahí se propaga a otras partes del cerebro durante la crisis. No obstante las crisis generalizadas, no tienen evidencia de inicio localizado; las manifestaciones clínicas y descargas eléctricas anormales no indican una señal de inicio localizado de la anomalía, (4).

Las crisis parciales son divididas en tres grupos: (a) crisis parciales simples, (b) crisis parciales complejas, y (c) crisis parciales, secundariamente generalizadas. En las

crisis parciales simples habitualmente se afecta un hemisferio y se conserva el estado de conciencia; generalmente con la participación del hemisferio unilateral. Las crisis parciales complejas están asociadas con alteraciones o pérdida del estado de conciencia, con participación de ambos hemisferios. Una crisis parcial puede ser secundariamente generalizada, y convertirse en crisis tónico-clónico generalizadas. Las crisis generalizadas incluyen: (a) crisis tónico-clónico generalizadas (gran mal); (b) crisis de ausencias (pequeño mal); (c) crisis mioclónicas; (d) crisis atónicas, (e) crisis clónicas, y (f) crisis tónicas. Además, la mayoría de las crisis se relacionan con alguno de los factores precipitantes mencionados. En algunos pacientes las crisis son precipitadas por factores del medio ambiente; a saber: Stress, estímulos luminosos, audiogénicos, etc (4).

Las epilepsias se manifiestan en base a los diversos síndromes caracterizados por variaciones en las causas, tipos de crisis, etiología, edades en que éstas inician, así como sus características electroencefalográficas; esto indujo a una nueva clasificación de los síndromes (21-27).

CLASIFICACION Y MANIFESTACIONES DE LAS CRISIS EPILEPTICAS

(CLINICA Y EEG)

I.- EN RELACION CON SU LOCALIZACION (focal, local, parcial)

A) IDIOPATICA (primaria): Epilepsia benigna de la infancia con espigas centrotemporales. Epilepsia infantil con paroxismos occipitales. Epilepsia primaria de interpretación.

B) CRIPTOGENICA: Caracterizadas por: tipo de crisis (CISE), características clínicas, etiología, localización anatómica.

C) SINTOMATICAS (secundarias): Epilepsias de lóbulos: temporal, frontal, parietal, occipital, Parcial crónica progresiva continua de pre-escolares y escolares. Síndromes caracterizados por crisis con formas específicas de precipitación.

II.- GENERALIZADAS

A) EPILEPSIAS IDIOPATICAS GENERALIZADAS.

Benignas (inician en el recién nacido). Epilepsia mioclónica benigna en la infancia; Epilepsia con ausencias de la infancia (picnolepsia); Epilepsia juvenil con ausencias; Epilepsia mioclónica juvenil (pequeño mal impulsivo); Epilepsia con crisis de gran mal (CTCG) al despertar. Otras epilepsias idiopáticas generalizadas: Epilepsias con crisis precipitadas por modos específicos de activación.

B) CRIPTOGENICAS O SINTOMATICAS

Síndrome de West (espasmos infantiles, Blitz Nick-Salaam Krämofo). Síndrome de Lennox-Gastaut. Epilepsia con crisis mioclónicas astáticas. Epilepsia mioclónica con ausencias.

C) SINTOMATICAS

Etiología no específica, niños con severa epilepsia y retraso mental, quienes carecían de rasgos característicos del síndrome Lennox-Gastaut. Síndromes específicos que implican severos defectos en el desarrollo mental, con crisis parciales y generalizadas, esclerosis y encefalomiopatía.

III.- EPILEPSIAS INDETERMINADAS

A) CON CRISIS TANTO GENERALIZADAS COMO FOCALES:

Crisis neonatales. Epilepsias mioclónicas severas en el infante. Epilepsias con onda-espiga; de corta duración con ondas lentas durante la fase de sueño. Afasia epiléptica adquirida (síndrome de Landau-Kleffner). Otras epilepsias indeterminadas.

B) CON CARACTERISTICAS DUDOSAS DE GENERALIZACION O

FOCALIZACION.

Pacientes con crisis generalizadas tónico-clónicas en quienes sus rasgos EEG y clínicos no permitieron otra clasificación.

IV.- CRISIS AISLADAS.

Aquí encontramos crisis en relación con situaciones específicas, como son convulsiones febriles, crisis aisladas o status epiléptico aislado, crisis durante fases de intoxicación aguda por: alcohol, drogas, eclampsia, nocetósico, hiperglucemia no cetosica.

La clasificación de acuerdo a términos antiguos, epilepsia mayor y epilepsia menor, frecuentemente ocasionan confusión, y no es útil para la terapéutica donde es necesario el diagnóstico preciso.

Las epilepsias clasificadas etimologicamente como idiopáticas o sintomáticas implica en las últimas que la causa pueda ser determinada. Muchas epilepsias idiopáticas inician durante la niñez y la adolescencia. La epilepsia que se presenta durante la infancia generalmente surge durante la pubertad. Enfermedades metabólicas o sufrimiento al nacer. La epilepsia que inicia en el adulto generalmente se debe a trauma, tumores u otras enfermedades con repercusión en SNC.

En la búsqueda de fármacos útiles para el tratamiento de los estados convulsivos y de la Epilepsia se han empleado los más diversos enfoques. Así desde hipocrates el tratamiento de la Epilepsia incluía testículo de hipopótamo y sangre de tortuga (28). Durante el siglo XVII fue tratada con enemas, purgantes y fomentos. Pero al llegar el siglo XVIII se abandono la idea de que la enfermedad fuera de origen paranormal, substituida por otra idea equivocada, según la cual dependia de excesos sexuales y de masturbación (29). Esta idea alcanzo un máximo de intolerancia a finales del siglo XIX, cuando se recomendo la castración como tratamiento de los varones epilépticos.

Sin embargo, hecho paradójico, la concepción errónea de la sexualidad en la etiología de la Epilepsia, fue por azar el motivo del primer tratamiento medicamentoso eficaz en la epilepsia en 1857; cuando Charles Locock introdujo con éxito los bromuros, su estudio tuvo una base supuestamente racional: se creía que el onanismo era la causa de la Epilepsia y que los bromuros tenían efecto anafrodisiaco. Aunque ambas ideas son falsas, los bromuros si tienen un buen efecto antiepiléptico (30). El adelanto más importante en el tratamiento se logró en 1912 cuando Hauptman; en Alemania, describió la eficacia del fenobarbital en la epilepsia de gran mal (31). El siguiente avance importante fue un poco antes de la guerra de 1939-45 cuando se prepararon las hidantoínas en EU; luego en 1945, la primera de las succinamidas proporcionó un adelanto importante en el tratamiento de la epilepsia de pequeño mal (32). El importante grupo de las Benzodiazepinas de Sterbach que se iniciara con el Clordiazepóxido en 1960, fué seguido por la síntesis del Diazepam, clonazepam y nitrazepam (30). El primero se descubrió en un estudio farmacológico orientado hacia la obtención de compuestos tranquilizantes. En 1974 se encontró que también la carbamazepina, cuyas propiedades para el tratamiento de la neuralgia del trigémino, descubiertas en 1960, asimismo, se mostró que era eficaz para el tratamiento de la Epilepsia (33). El dipropilacetato o ácido valproico se sintetizó en 1881 para uso industrial como solvente. En 1974, (34) durante el

Actualmente disponemos de 8 fármacos antiepilépticos que controlan la mayoría de las crisis con predominio en el uso de 2 o más fármacos; sin embargo, existe la tendencia a utilizarlos hasta lograr en lo posible un régimen de monofarmacoterapia. En cualquier circunstancia, habitualmente el paciente epiléptico debe permanecer bajo tratamiento con medicamentos antiepilépticos durante su vida lo cual ha permitido describir los efectos colaterales adversos que estos manifiestan pero a la vez orientan hacia la búsqueda de nuevos fármacos (37). Entre los efectos colaterales benéficos existe el de difenilhidantoína como antiarrítmico (38).

Debemos esclarecer que algunos efectos colaterales han sido benéficos. Algunos analgésicos derivados de la morfina y antagonistas como la naloxona han permitido conocer los sitios receptores donde actúan en SNC así como la similitud de acción de éstos con las endorfinas (39). La afinidad, especificidad, entre receptores contorno a "Formas" y ligandos (contingentes) han favorecido la necesidad de sintetizar compuestos cuyos grupos funcionales radicales y aparte la totalidad de su molécula se acopla al "entorno" del receptor para suscitar una función biológica. Por otra parte, permite seleccionar mejor los procedimientos de extracción, purificación e identificación de principios activos con características químicas parecidas a las conocidas en sus relaciones de forma-ligando a

concentraciones hasta en el orden de 10⁻¹⁵ a fin de que entre los principios activos de plantas medicinales surja un aporte complementario de nuevas estructuras químicas que no serían las convencionales, puesto que sin excepción, los medicamentos actualmente en uso son de origen sintético. Además, con el advenimiento de procedimientos electroquímicos, la destrucción de una estructura vegetal evitaría las transformaciones que ordinariamente se suscitan al exponer los hidrolatos vegetales a temperaturas elevadas antes de realizar los ensayos biológicos que sustituyen su síntesis química.

México tiene una de las floras más variadas del mundo, con más de 30,000 especies, reflejadas en la presencia de casi todos los tipos de vegetación, como consecuencia de la variabilidad topográfica, climática de latitud y de suelos (40).

Dentro de las plantas que ejercen efecto sobre SNC; en particular, aquellas que manifiestan propiedades anticonvulsivas, se han reportado aproximadamente 50 con una variedad amplia de nuevas estructuras químicas potencialmente responsables del efecto anticonvulsivo en modelos experimentales de crisis epileptiformes (MECE). Por lo tanto resulta imprescindible continuar con la búsqueda de nuevos recursos terapéuticos para aumentar la posibilidad de un mejor control del paciente epiléptico. Tal es el caso

del borneol extraído de plantas medicinales tales como: *Driobalanops canfora*, valeriana, romero y rubia, que tienen efecto sobre (SNC); siendo este un compuesto clasificado dentro del grupo de los terpenos los cuales se encuentran involucrados en la síntesis del geraniol, farnesol, hasta derivados del colostano, como los silosteroles o entre los compuestos mencionados es posible que a semejanza del farnesol que, muestre actividad anticonvulsiónante (41). El farnesol por su estructura alifática y tres dobles ligaduras tiende a ciclizarse para formar un primer anillo hidrocarbonado saturado; consecuentemente es posible que el borneol también manifieste efectos inhibitorios contra inductores de convulsiones. Además, se ha mostrado una inhibición competitiva a uniones covalentes de proteínas entre el borneol y el ácido valproico (antiepiléptico) favorecida por el borneol; ésta permite pensar en una competencia estereoespecífica por los mismos sitios de transporte y aceptores donde actúa el ácido valproico (42).

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE BORNEOL

Es un alcohol secundario, en forma de cuerpos sólidos blancos con olor a alcanfor y sabor ardiente, insoluble en agua, se disuelve en alcohol, éter y cloroformo; se volatiliza a temperatura ambiente, se sublima fácilmente por encima de 100 °C y su punto de fusión corresponde a 212 °C.

Químicamente se utiliza en la manufactura de ésteres de borneol e isoborneol así como en perfumerías y en la fabricación de incienso.

Farmacológicamente se ha utilizado como antiinflamatorio, un inconveniente detectado en estudios con ratas corresponde a la acción inhibitoria de la glucuronidación. En base a lo mencionado es posible que el borneol (terpenoide) ejerza efecto inhibitorio de crisis inducibles eléctrica o químicamente.

HIPOTESIS: El borneol de manera semejante al Farnesol, Fenobarbital, y DFH-Na, administrado oralmente inhibe las convulsiones inducidas por electroestimulación supramáxima (EESM) en el animal de experimentación.

OBJETIVOS:

A) Determinar la protección que ejerce la administración oral de borneol contra estímulos eléctricos supramaximo (EESM)

B) Determinar la dosis efectiva media (DE50) a EESM, así como los valores obtenidos para la prueba de EESM, Tiempo de latencia, Duración del reflejo, Tiempo de incorporación, Tiempo de recuperación, mediante métodos estadísticos.

MATERIALES Y METODOS:

Material Biológico: Se trabajó con ratas macho de la cepa Wistar, adultos con un peso corporal entre 200-300 g mantenidas en un cuarto con temperatura de 22°C aproximadamente, ciclos de luz-obscuridad de 12h, alimento comercial (chow-purina) y agua "ad libitum"; que brindaron respuesta positiva a la prueba de electroestimulación supramaxima (EESM).

Material Químico: Incluye borneol (adquirido sigma), propilenglicol, solución salina; así como difenilhidantoinato sódico (DFH-Na), fenobarbital (Fen) adquiridos de productos sigma.

Equipo: se utilizó un aparato de electroestimulación diseñado en esta unidad (U.I.B.Q.); este cuenta con un par de electrodos; así como jeringas calibradas para tuberculina, cánulas orales y un par de guantes.

Métodos: Las pruebas de tamizaje anticonvulsión están diseñadas para identificar sustancias que elevan el umbral de crisis y/o la extensión de las mismas; la prueba de umbral de crisis por Met sc y la prueba de EESM son las más comúnmente utilizadas en la fase inicial para lograr este objetivo (43). Ambas han sido suficientes hasta el momento actual para evaluar la mayoría de las drogas

Antiepilépticas, actualmente útiles en la terapia antiepiléptica (44). Así a través de la prueba de Met sc es posible identificar sustancias químicas que alteran el umbral de crisis, mientras que la prueba de EESM permite identificar las sustancias químicas que evitan la difusión del estímulo (43).

La electroestimulación supramaxima (EESM) se realizó de acuerdo al método descrito por Goodman y colaboradores (45).

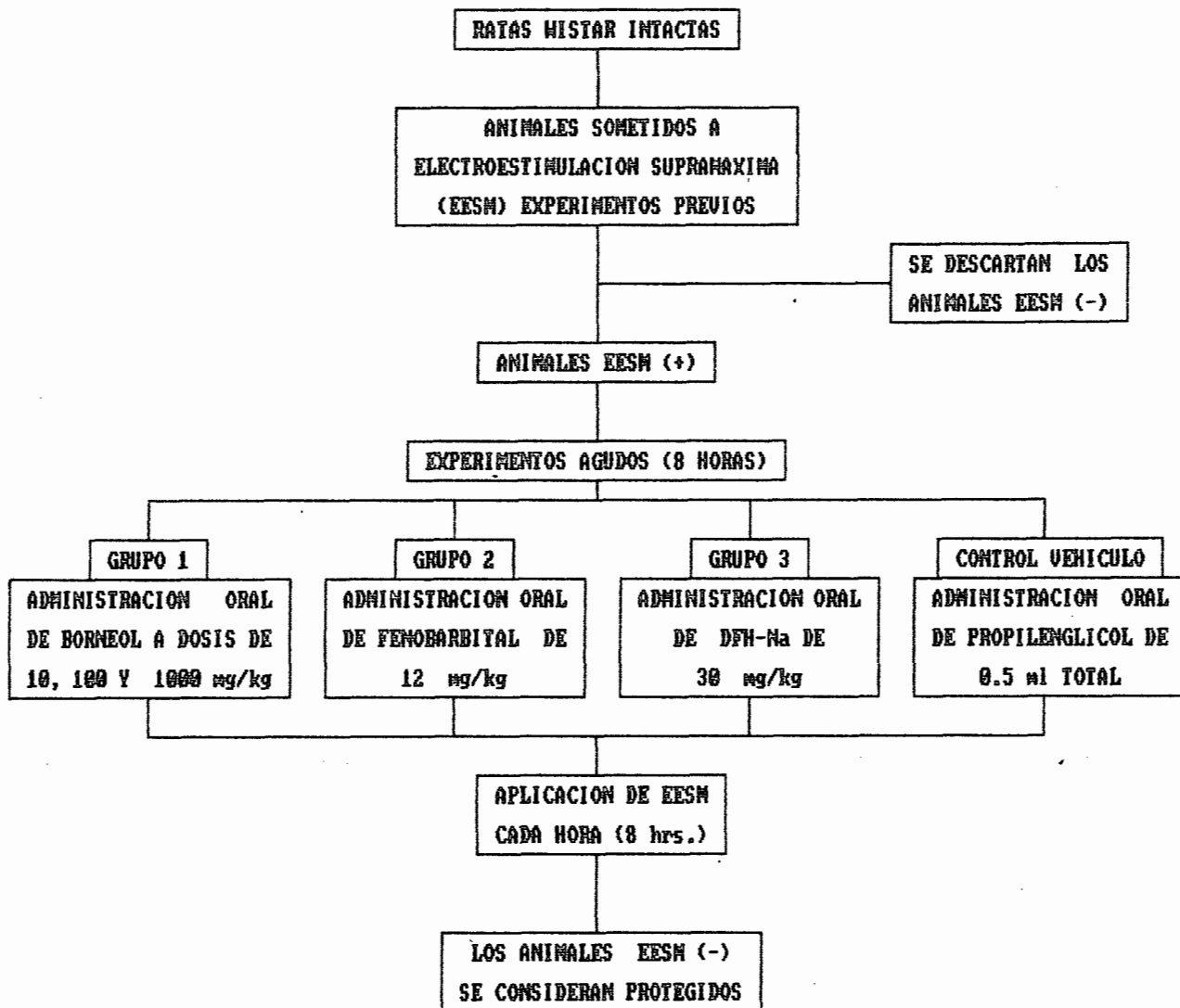
ELECTROESTIMULACION SUPRAMAXIMA.

Los animales fueron sometidos a EESM aplicando una corriente de 150 mA durante 0.2 seg a través de las córneas del animal. El parámetro más importante de esta prueba es la extensión tónica de las extremidades posteriores del animal de experimentación (denominado reflejo extensor). Fueron medidas las siguientes variables: a) tiempo de latencia, el cual corresponde al tiempo que transcurre desde la aplicación de la corriente hasta que el animal presenta el reflejo extensor de los miembros posteriores. b) tiempo de duración del reflejo; periodo en el cual el animal presenta la crisis convulsiva autosostenida. c) tiempo de incorporación, etapa que transcurre desde que el animal cesa los reflejos hasta la incorporación total del animal. d) tiempo de recuperación, que es el tiempo que transcurre desde el tiempo del reflejo extensor hasta que el animal recupera su

posición de ortostatismo. Los animales que no presentan el reflejo extensor de los miembros posteriores (EESM-) fueron excluidos para la realización de este trabajo.

Los resultados se analizaron por la prueba T de "student", y las diferencias estadísticamente significativas mediante el método de Duncan a una $P < 0.01$ (para los datos obtenidos en la prueba de EESM).

DISEÑO EXPERIMENTAL



EXPERIMENTOS AGUDOS

1) Administración oral de borneol a dosis de 10, 100 y 1000 mg/kg de peso, para observar la respuesta a la EESM. A un grupo de 80 animales posteriormente divididos en subgrupos de 10 animales que previamente mostraron respuesta positiva a la prueba de EESM, se le administro borneol a dosis de 10 mg/kg de peso diluido en propilenglicol. Al primer subgrupo de 10 animales de los 80 dosificados (8 horas de estudio) se les sometio a EESM una hora después de haber administrado el borneol; y así sucesivamente hasta completar la 8va hora de estudio; registrándose las siguientes variables : a) número de animales que inhiben el reflejo extensor de los miembros posteriores (animales protegidos a EESM por efecto del borneol, b) tiempo de latencia de los animales que si presentan el reflejo extensor de los miembros posteriores (animales que no se protegieron), c) tiempo de incorporación, d) tiempo de recuperación.

Una vez obtenidos los resultados con la dosis de 10 mg/kg de peso se prosiguió con otro grupo de 80 animales para trabajar de la misma manera con la dosis de 100 y 1000 mg/kg de peso de borneol independiente una dosis de otra.

2) Experimento testigo con DFH-Na a dosis de 30 mg/kg de peso contra crisis inducidas por EESM. En 80 animales (EESM+), se administro la dosis indicadas de DFH-Na

oralmente. Enseguida únicamente se somete a 10 animales a EESM a la primera hora de estudio después de haber administrado éste antiepiléptico y se registro las variables establecidas para esta prueba. A la segunda hora transcurrida se someten otros 10 animales a EESM y así sucesivamente hasta completar la 8va hora de estudio de dosis respuesta con 10 animales para cada subgrupo (n=80 animales).

3) Experimento testigo de fenobarbital a dosis respuesta de 12 mg/kg de peso con respuesta a EESM. Para éste estudio se utilizaron 80 animales (EESM+) con la correspondiente administración oral de fenobarbital sometiéndolos a la EESM para cada subgrupo de 10 animales a las diferentes horas de estudio (8 horas) después de haber administrado el fenobarbital registrándose las variables establecidas para ésta prueba que son: a) número de animales que inhiben el reflejo extensor de los miembros posteriores, b) tiempo de latencia de los animales que si presentan el reflejo extensor de los miembros posteriores, c) tiempo de incorporación, d) tiempo de recuperación.

4) Experimento testigo con respuesta a la EESM de propilenglicol de 0.5 ml total como control del vehiculo, este experimento se realizo exactamente igual que el experimento No. 3.

RESULTADOS.

La protección ejercida por la administración oral de borneol para las dosis de 10 mg/kg de peso a las crisis inducidas por electroestimulación supramáxima (EESM); (Fig. 1) se observó que el máximo porcentaje de protección del 31 % se realizó a la quinta hora de estudio y el mínimo porcentaje fué del 20 % en todas las demás horas.

Cuando se administró 100 mg/kg de borneol previamente a la EESM se manifestó una protección máxima del 44% a la quinta y séptima hora. Sin embargo, con la dosis de 1000 mg/kg de peso de borneol, la respuesta a la EESM (Fig.3) es creciente ya que desde la primera hora se observó un 10 % de protección, incrementándose a un 30% en la segunda hora y del 44 % en la tercera, hasta la sexta hora; con una disminución (porcentaje de protección) a la séptima y octava hora de estudio.

El tiempo de latencia a la EESM, en las tres dosis establecidas a 10 , 100 y 1000 mg/kg (Fig.4) se observó que no existe diferencia estadística significativa con respecto al control; sin embargo a dosis de 100 y 1000 mg/kg de peso; se observó una tendencia hacia el incremento de latencia con respecto al control aún no significativo.

La duración del reflejo extensor de los miembros posteriores en EESM, correspondió a una disminución (Reflejo

extensor) con respecto al control, ya que a dosis de 10 mg/kg existe un grado de significancia estadística de $P < 0.001$ (Fig.5), excepto para la séptima y octava hora de estudio, lo cual no hay diferencia significativa, permaneciendo el reflejo extensor igual o más prolongado que el control.

También se encontró que a dosis de 100 y 1000 mg/kg se hace presente ésta disminución del reflejo extensor con una alta significancia estadística de $P < 0.001$; sobre todo a la quinta, segunda y tercera hora respectivamente.

El tiempo de incorporación en el animal de experimentación (rata wistar) a dosis de 10 mg/kg de peso, presentó su ortostatismo en un periodo menor (minutos) que el mismo control, con una significancia de $P < 0.001$; no así para la primera y quinta hora de estudio (Fig.6). No obstante a dosis de 100 mg/kg se observó que solo prevalece significancia estadística a la quinta y séptima hora con respecto al control.

Sin embargo a dosis de 1000 mg/kg se observó que se manifiesta una importante disminución en la incorporación del animal ($P < 0.001$).

El tiempo de recuperación para las dosis logarítmicas de 10, 100 y 1000 mg/kg de peso de borneol se observó que existe un menor tiempo de recuperación a dosis de 10 mg/kg de peso con una significancia estadística de $P < 0.001$ para la segunda, tercera, séptima y octava hora de; por lo tanto a dosis de 100 mg/kg también hay significancia estadística

para la quinta hora como se puede ver en la (Fig.7). Asimismo, no descartando la primera y quinta hora a dosis de 1000 mg/kg con una significancia de $P < 0.01$ y $P < 0.05$ respectivamente.

En el experimento testigo a la EESM de propilenglicol se observó que existe un porcentaje de protección del 10 % (Fig.8), únicamente a la segunda, cuarta, quinta, séptima y octava hora.

En el experimento No.2 se observó que a 30 mg/kg de peso de DFH-Na (Antiepiléptico) el porcentaje de protección ejercido contra la EESM se incrementó desde la segunda hora hasta alcanzar un máximo de protección del 80 % a la octava hora de estudio (Fig.9).

El fenobarbital que es otro antiepiléptico, ampliamente utilizado en la terapia antiepiléptica se observó que el resultado de la EESM a dosis de 12 mg/kg de peso (Fig.10); ejerce una protección desde la primera hora de estudio con un 22 % de protección, observándose su máximo porcentaje de protección a la sexta hora de estudio con un 92% , disminuyendo paulatinamente a la séptima y octava hora de haber administrado dicho fármaco.

Respuesta de Borneol a EESM

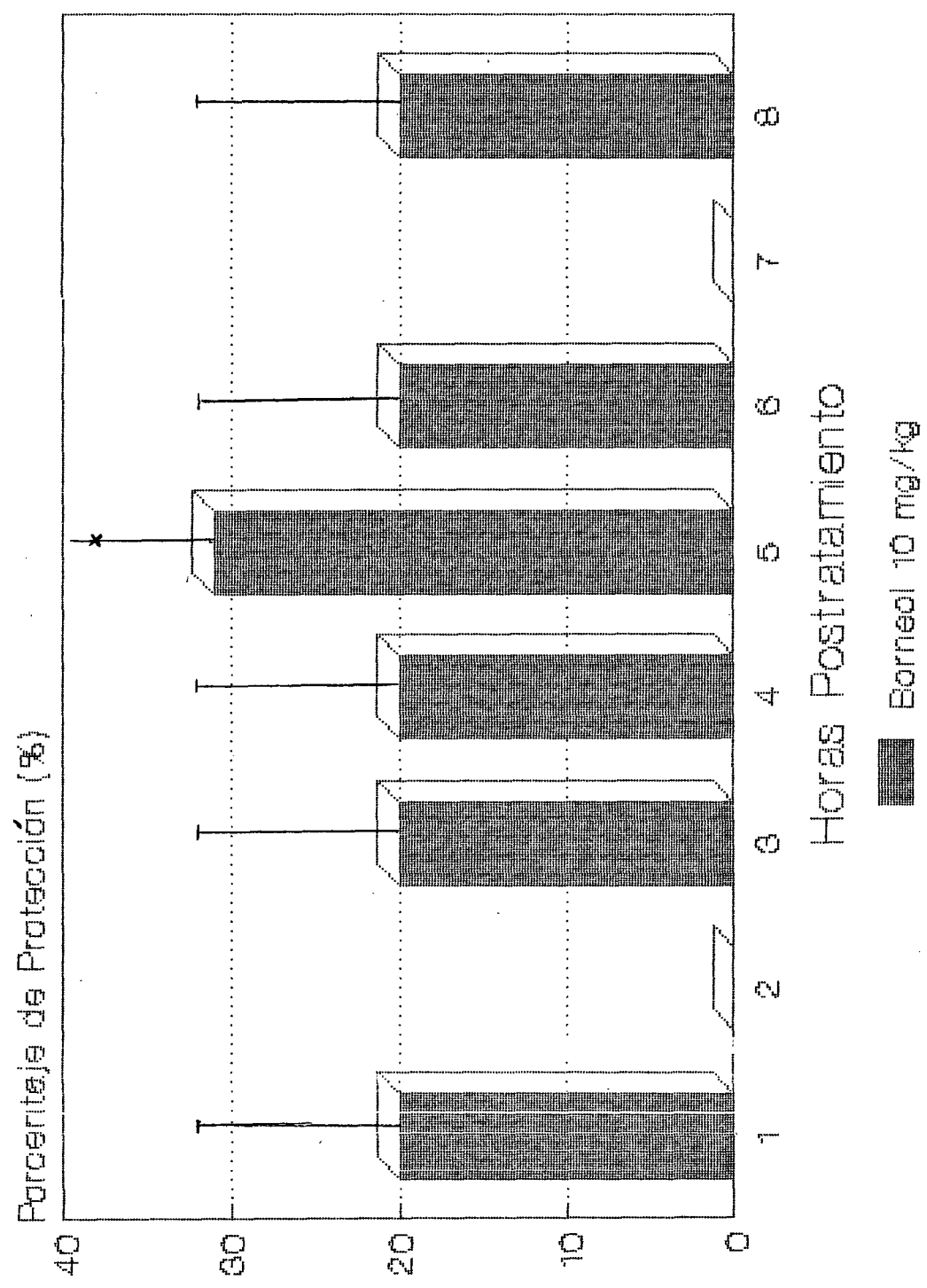


Figure 1.

Respuesta de Borneol a EESM

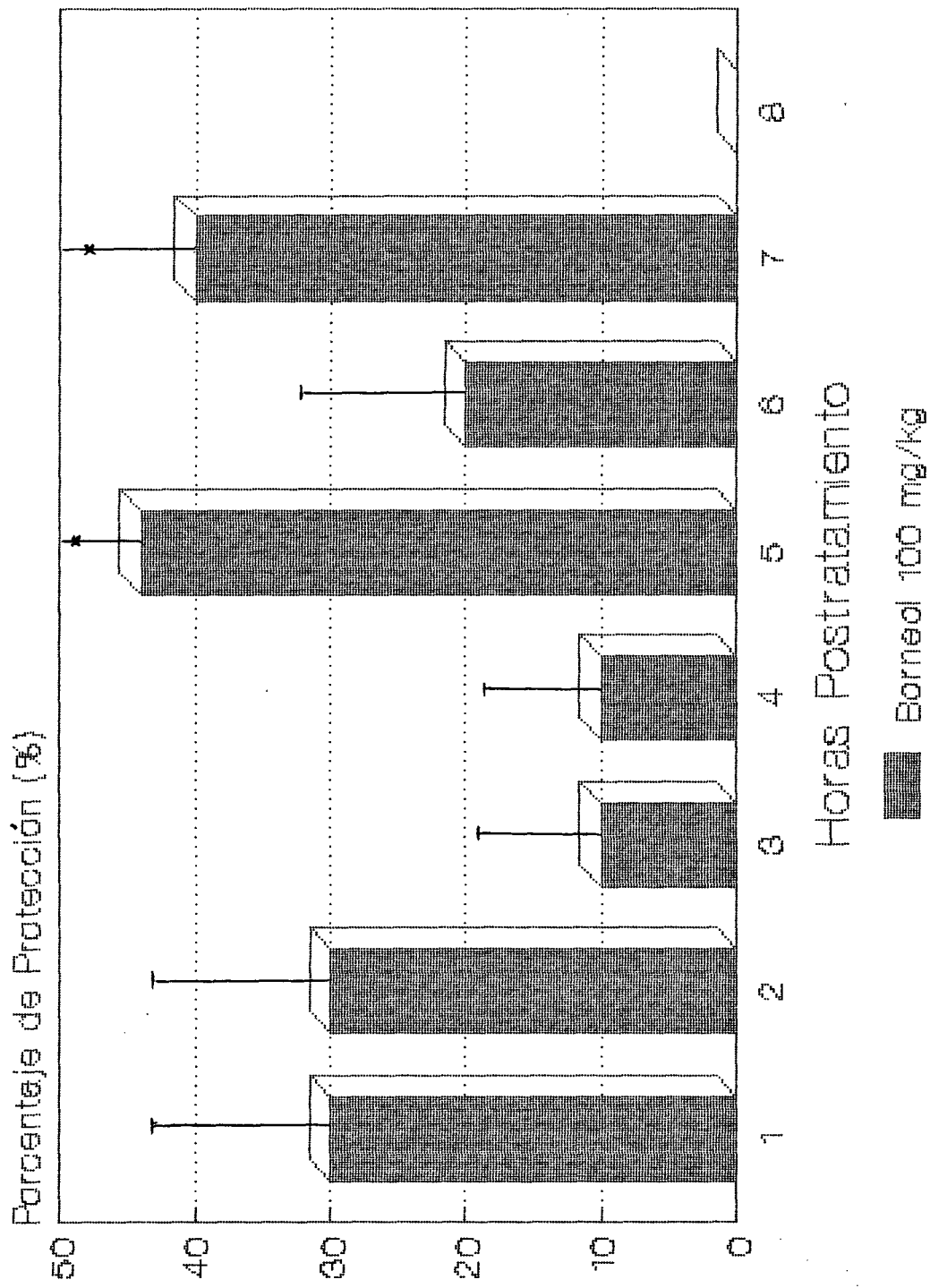


Figura 2.

Respuesta de Borneol a EESM

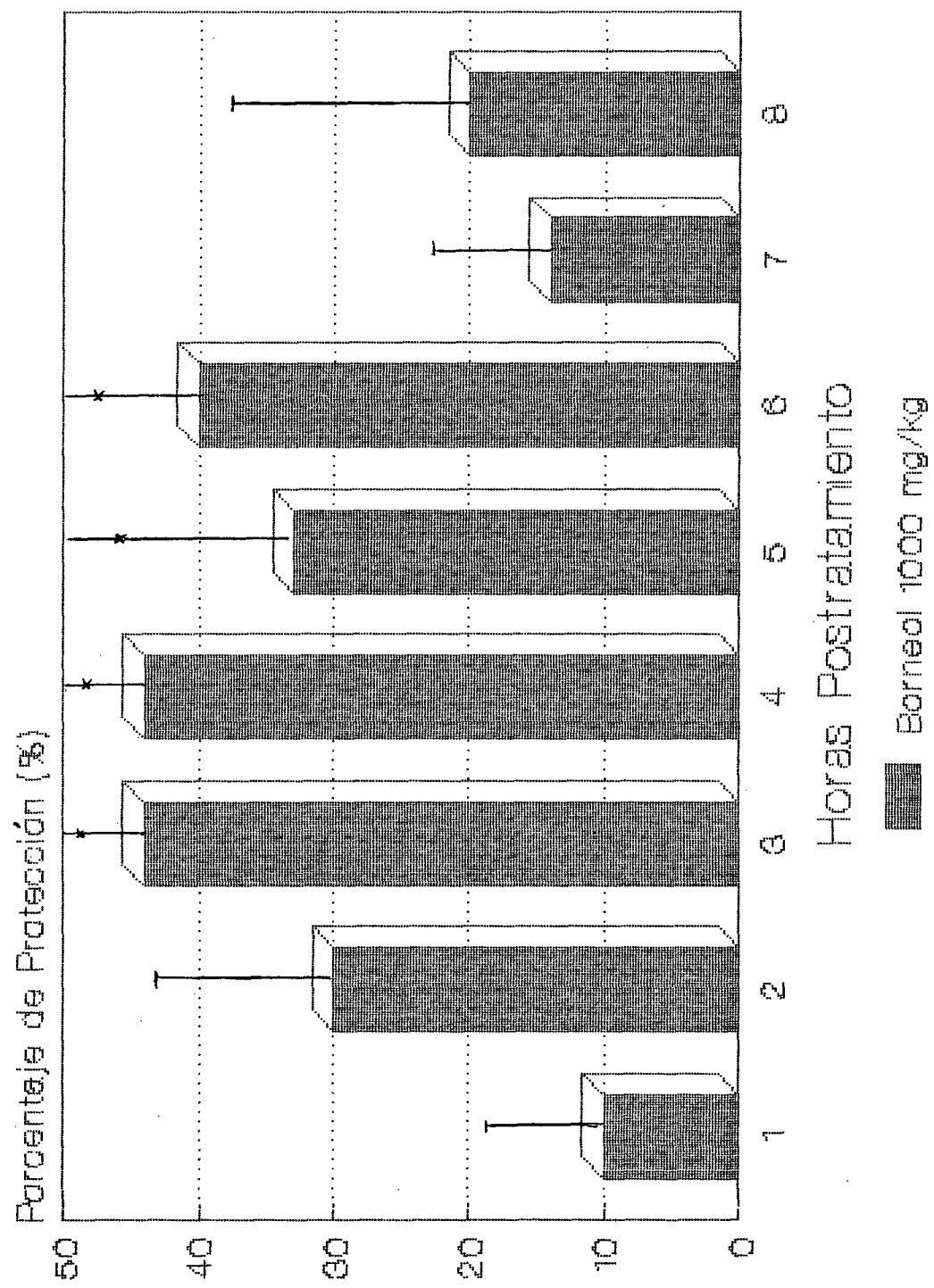


Figura 3.

Respuesta de Borneol a EESM

Tiempo de Latencia (seg)

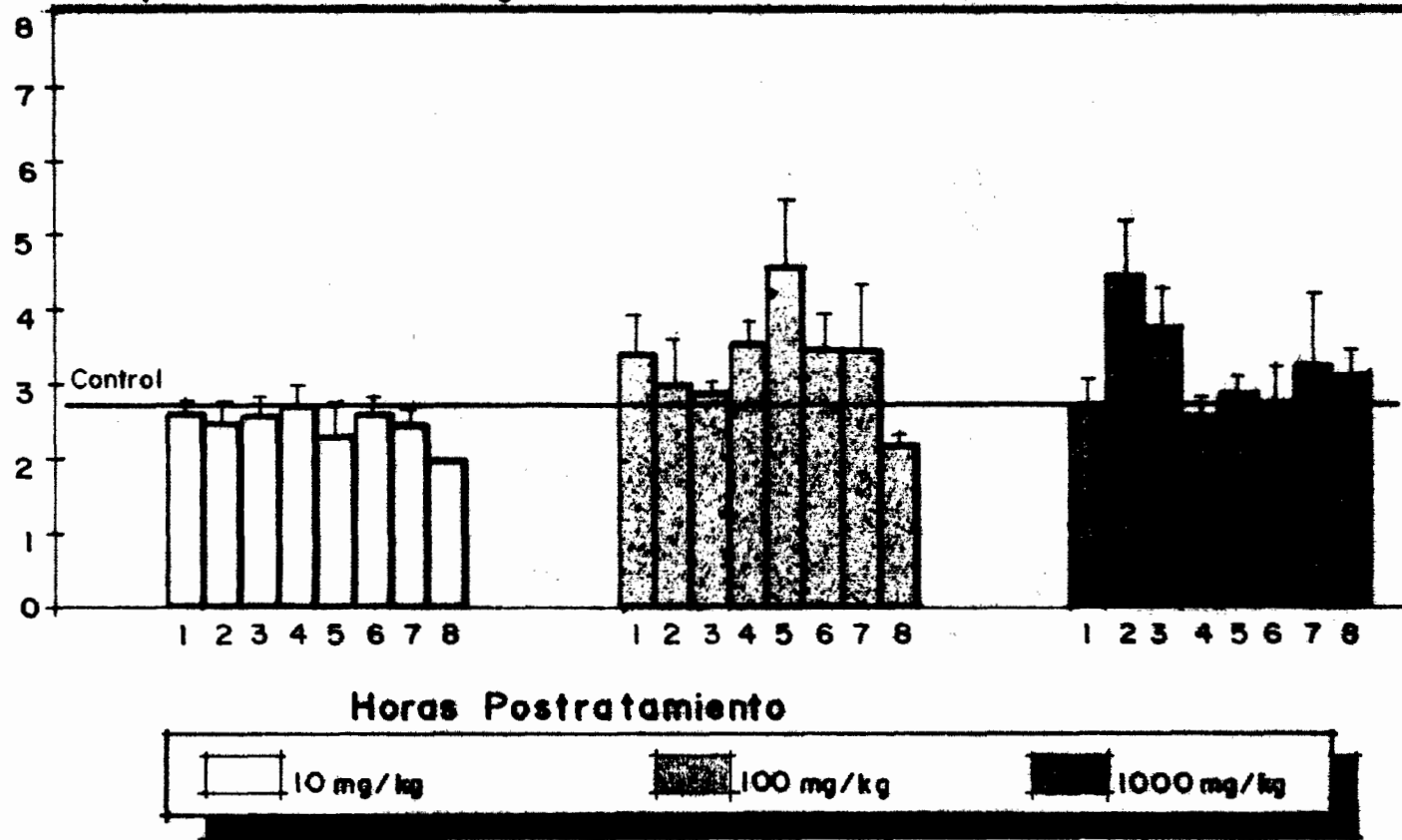


Figura 4

Respuesta de Borneol a EESM

Duración de Reflejo (seg)

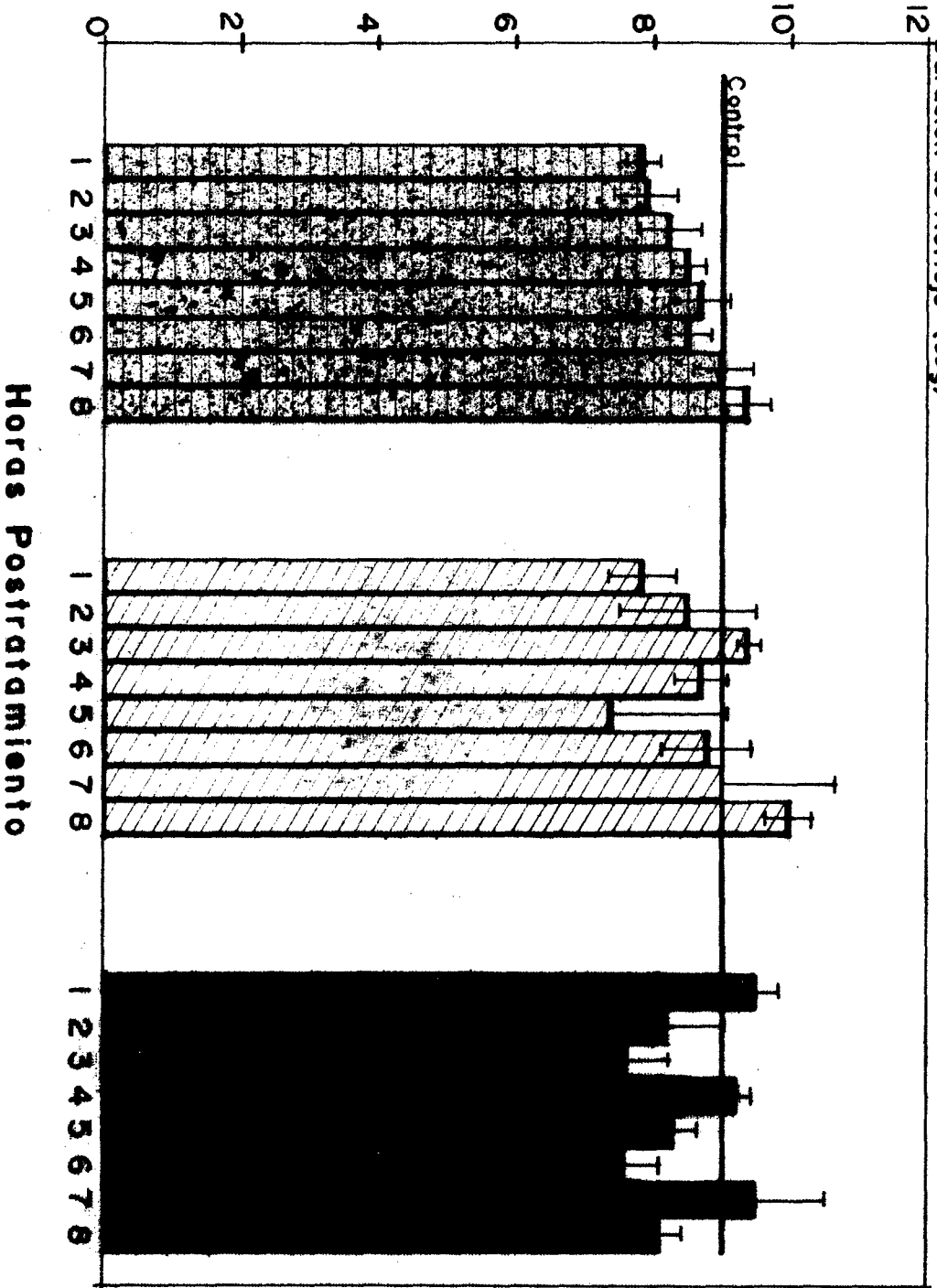


Figura 5

Respuesta de Borneol a EESM

Tiempo de Incorporación (min)

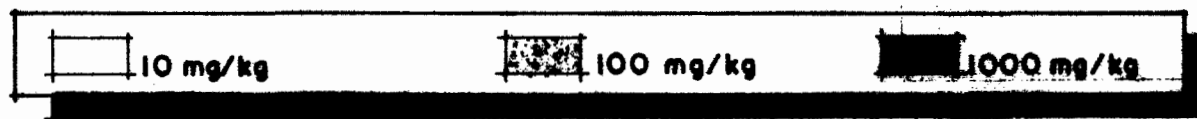
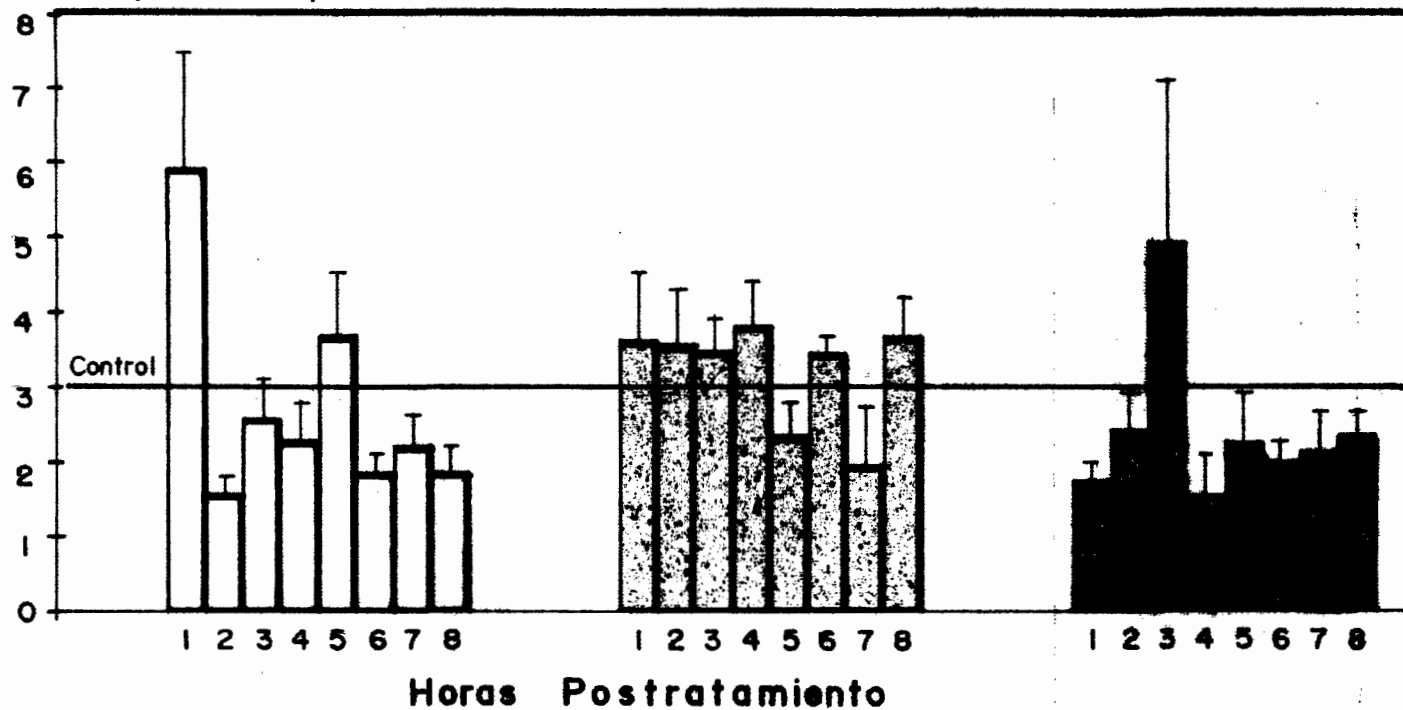


Figura 6

Respuesta de Borneol a EESM

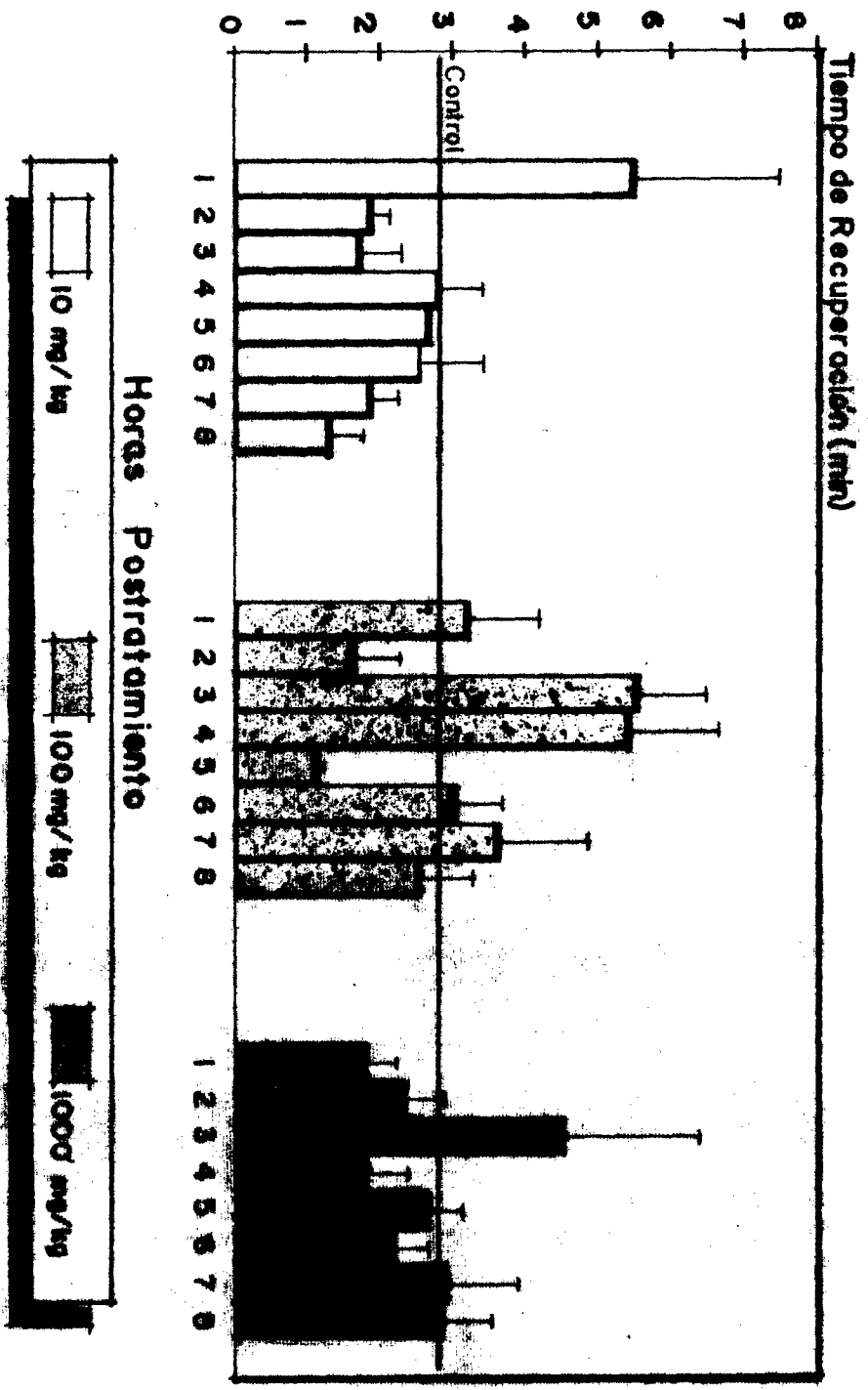


Figura 7

Respuesta de PG a EESM

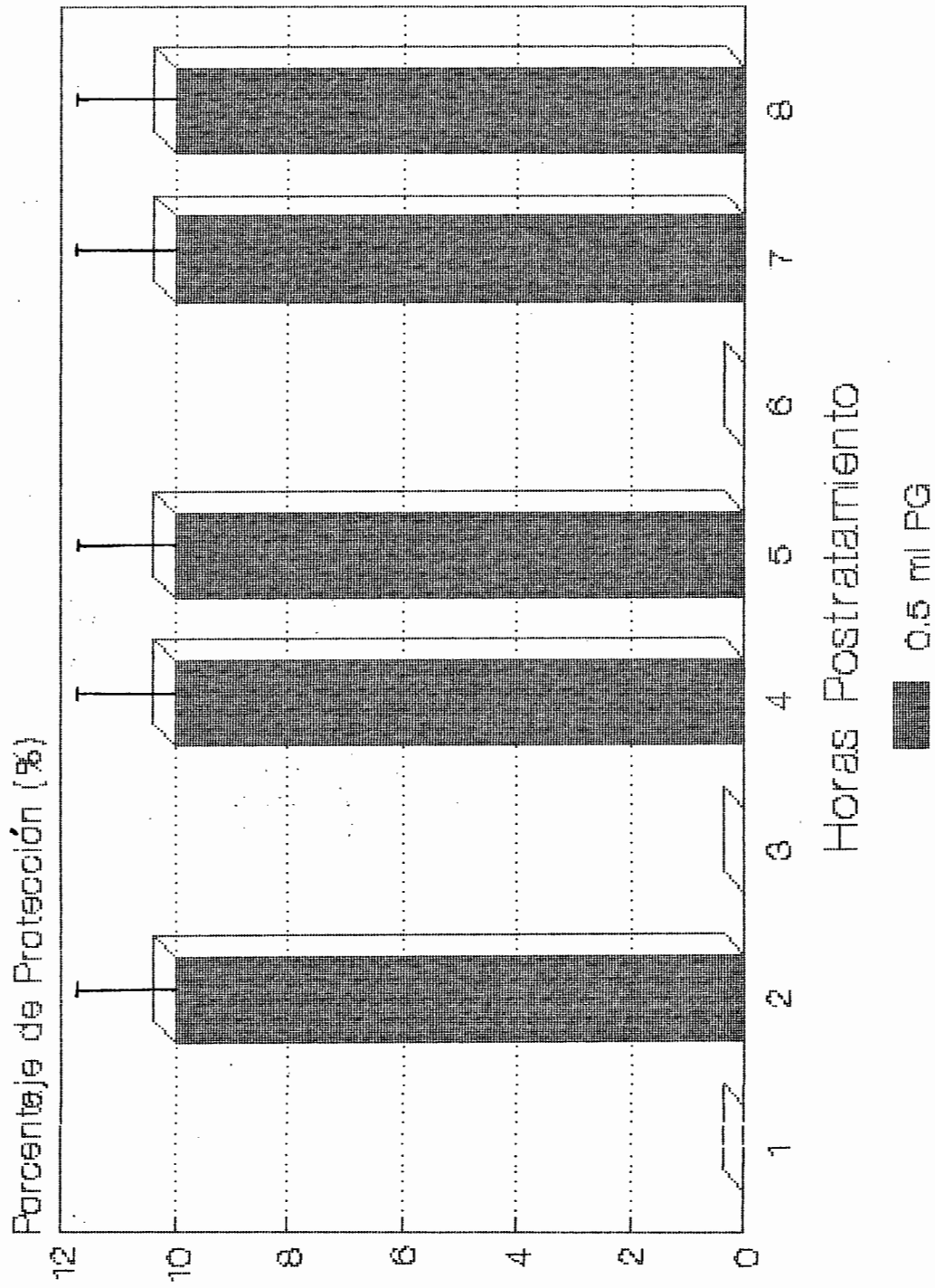


Figura 8.

Respuesta de DFH-Na a EESM

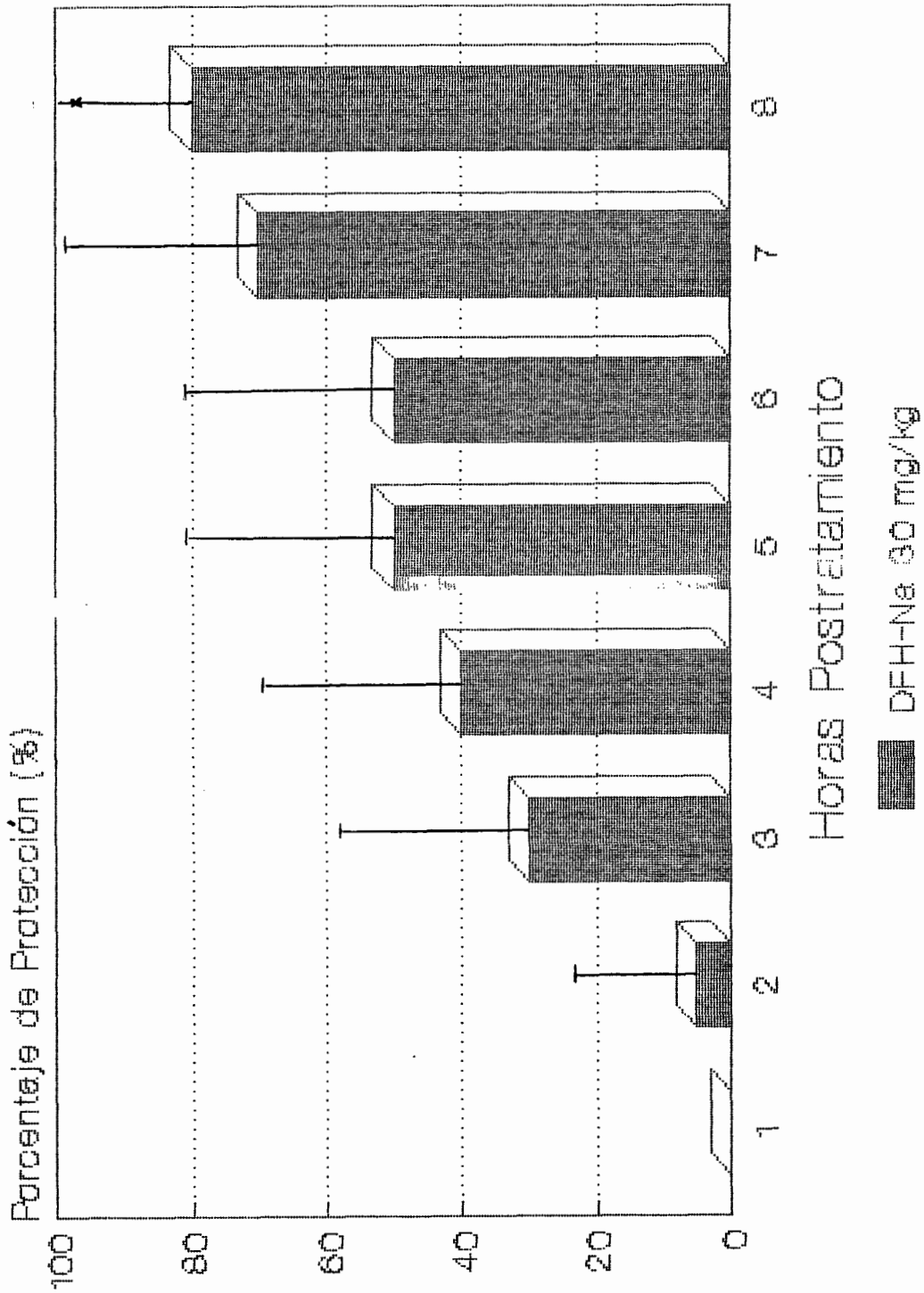


Figure 6.

Respuesta de Fenobarbital a EESM

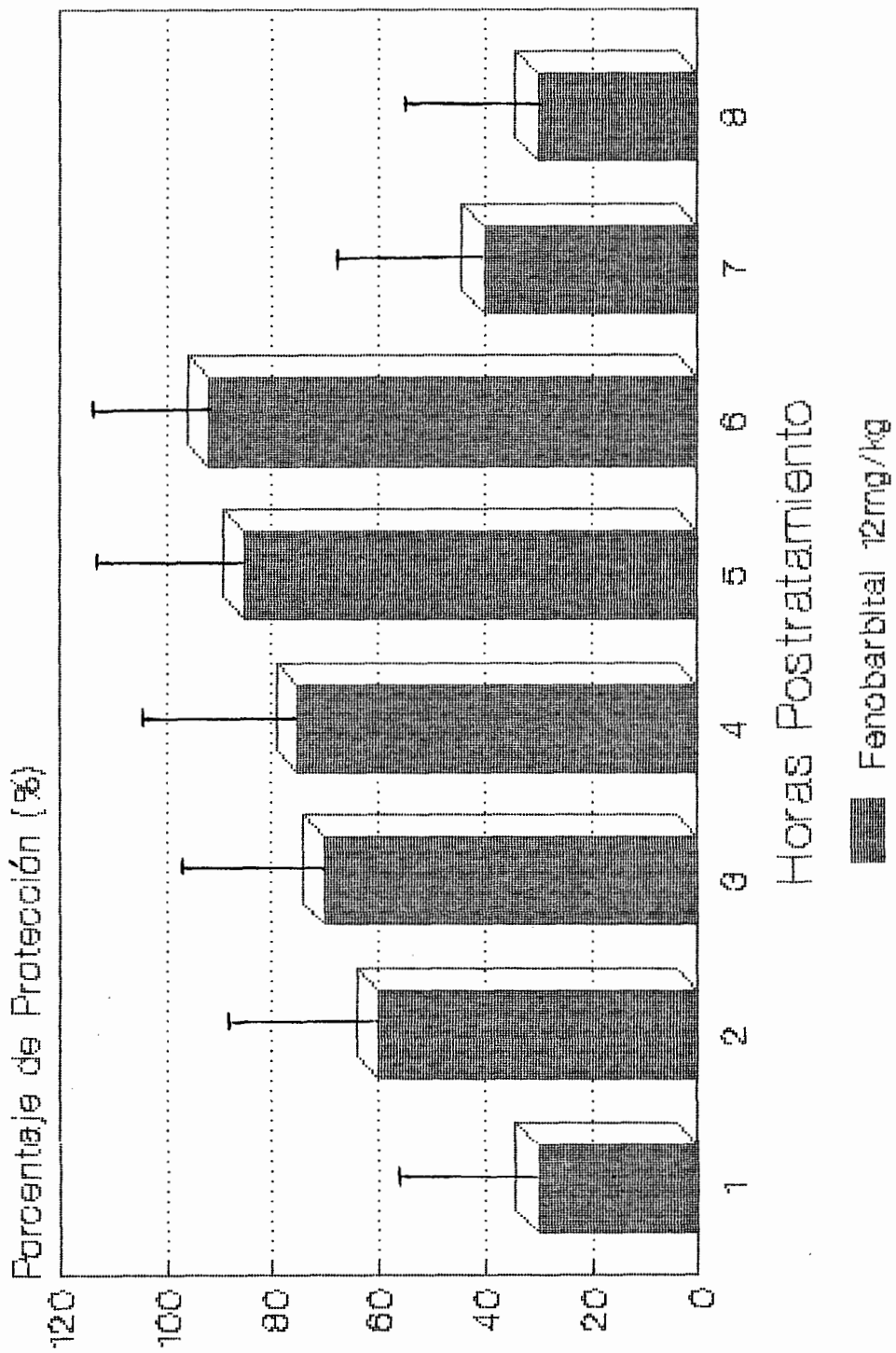


Figura 10.

DISCUSION

En virtud de la necesidad de nuevos compuestos para la terapia Antiepiléptica el tamizaje anticonvulsionante permite evaluar compuestos en modelos animales de crisis epileptiformes (MECE) antes de utilizarlos en pacientes epilépticos, de tal manera que podamos comparar la eficiencia de extractos de plantas medicinales o compuestos purificados, así como compuestos sintetizados químicamente contra los valores de referencia conocidos en los fármacos de elección (11), tal es el caso del extracto acuoso como el liofilizado provenientes de la hoja *C. edulis*, ante convulsiones experimentales inducidas con estímulos eléctricos supramáximos y pentilene-tetrazol son protectores potentes (Inhiben las convulsiones) con ambas pruebas(10); asimismo otras de las pruebas comparativas la constituye el farnesol derivado de terpenos que ante ensayos de inducción de convulsiones físicos (Electroshock) y químicos como es la prueba de Met sc, también presentan inhibición de las convulsiones.

Consecuentemente primero, consideramos que los MECE constituyen la manera más fácil y mejor de conocer de que manera protegen algunos compuestos a ratones o ratas contra las crisis inducidas con las pruebas de EESM o Met sc a partir de las cuales se obtienen los valores de dosis

efectiva media (DE50), dosis tóxica media (DT50), dosis letal media (DL50), índice de protección (IP) y se continúa tanto hacia la evaluación de neurotoxicidad como la correspondiente a efectos más específicos en relación a mecanismos de acción.

Además de ser únicamente una simulación de lo que sucede en las epilepsias en el humano, cuando utilizamos los MECE, las cepas, sexo, alimentación, ciclos luz-obscuridad y manejo de los animales son factores determinantes, de variaciones en la respuesta a la inducción de crisis epileptiformes. En particular la cepa Sprague Dawley en relación con la cepa wistar manifiesta mayor porcentaje de protección contra EESM y Met sc.(44).

Todos los animales sometidos a los ensayos de protección tanto con borneol como DFH-Na y Fen previamente mostraron un valor promedio para la prueba de EESM así la rata wistar macho sometida a electroestimulación supramáxima y los valores previos a la administración de borneol fueron: Tiempo de latencia (t1) = 2.77 ± 0.59 ; duración del reflejo extensor de los miembros posteriores (Dremp) = 9.03 ± 0.47 ; Tiempo de incorporación (T.inc) = 3.02 ± 0.54 ; Tiempo de recuperación (T.rec) = 2.81 ± 0.90 .

Una vez que los animales recibieron las dosis logarítmicas de 10, 100 y 1000 mg/kg y se sometieron a

EESM se observó que el máximo porcentaje de protección se encontró a dosis de 100 mg/kg por vía oral, evitando la aparición del reflejo extensor hasta en un 44% (fig.2). Sin embargo, ésta protección permanece sin ninguna variación a dosis de 1000 mg/kg a la tercera y cuarta hora de estudio, por lo tanto el borneol se puede considerar como un candidato anticonvulsivo ya que es importante poner atención a la quinta hora de estudio a dosis de 100 mg/kg en donde se observó el máximo porcentaje de protección; además el tiempo de latencia en los animales que si presentaron el reflejo extensor en comparación con el previo se incrementa, indicándonos una protección (inhibición de la convulsión) no total pero si parcial de los animales tratados con borneol (fig. 4); por lo consiguiente se observó que la intensidad de las crisis inducidas por EESM en los animales tratados con borneol fué menos intensa, puesto que la duración del reflejo (DREMP), fué más corto desde la dosis de 10 mg/kg de peso (fig. 5).

Por otra parte no se realizó la prueba de Met sc debido a variaciones en la respuesta a éste inductor químico. Quien permanece en fase de reevaluación al cambio de respuesta; de hecho, se ha ensayado nuevos lotes de pentilene tetrazol, diferentes áreas corporales de aplicación subcutánea, edades y pesos.

Resulta importante e interesante observar que el Fenobarbital (12 mg/kg) protege desde la segunda hora contra EESM y ésta es máxima a la sexta hora (90%). En cambio el DFH-Na a dosis de 30 mg/kg protege un 80 % contra EESM a la octava hora ; a este respecto, coincide, el uso preodominante del DFH-Na para crisis convulsivas en el humano (45); por lo tanto se considera importante que el Borneol se someta al estudio de inhibición de crisis inducidas con Met sc ya que con ambas pruebas realizadas queda establecida la fase inicial de tamizaje Anticonvulsionante y de ésta manera continuar con las fases siguientes hasta llegar a la fase clínica en pacientes epilépticos.

Por su capacidad inhibitoria del borneol a la EESM, se justifica continuar con el estudio paralelo, de mecanismos de acción así como el estudio de neurotoxicidad y toxicidad general, mediante pruebas, de coordinación sensorimotora y de funcionalidad hepática, pancreática, renal, de corazón, así como también alteraciones en el sistema hematopoyético; de órganos y sistemas administrados en animales sometidos a borneol por 90 días.

De esta manera queda confirmada la hipótesis de que el borneol derivado de terpenos, actúa como inhibidor de crisis a la quinta hora de estudio a dosis de 100 mg/kg de peso inducidas por EESM .

CONCLUSIONES.

El borneol administrado oralmente manifestó un 44 % de protección (Inhibición de convulsiones) al antagonizar a la prueba de electroestimulación supramáxima (EESM) y resulta ser más efectivo a dosis de 100 mg/kg que a dosis de 1000 mg/kg de peso; aun manifestándose el mismo porcentaje para ambas dosis (44 %).

Sin embargo a dosis logarítmicas de 10, 100 y 1000 mg/kg de peso no se presentó muerte alguna en el animal de experimentación; con una DE44 (100 mg/kg) a la quinta hora de estudio.

Por lo tanto se considera necesario un estudio posterior donde pueda aplicarse la prueba de Met sc (inductor químico) para poder establecer la fase inicial de tamizaje Anticonvulsionante. De esta manera la actividad anticonvulsionante del Fen y DFH-Na son efectivos para la prueba de electroshock, especialmente a la segunda y octava hora respectivamente, como modelo comparativo para diferentes compuestos a estudiar.

BIBLIOGRAFIA.

- 1) Commission on classification and Terminology of the International League Against Epilepsy: proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 30: 389-399, 1989.
- 2) Dreifuss F. E.A. classification of epileptic seizures and the epilepsy international simposium. Ed. Akimoto H. Raven press New York, P. 9-13. 1982.
- 3) Joensen P. prevalence, incidence and classification of epilepsy in the foro. *Acta Neurol scand*; 74: 150-155, 1986.
- 4) Michael A. Rogawski and Roger J. porter.: Antiepileptic Drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising Developmental stage compounds. *Pharmacological Reviews*. vol 42, N.3 P. 224-285, 1980.
- 5) Bowman y Rand: Farmacología Bases Bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas capítulo 18 Parkinsonismo y Epilepsia. *Epilepsia* P. 18.22-18.29
- 6) Francisco Rubio Donnadieu. Generalidades y clasificación de la Epilepsia. Enfoque multidisciplinario P. 19-28. 1986.
- 7) Hernandez P. J. EPILEPSIA. Diagnostico y tratamiento. La prensa médica Mexicana. Segunda edición 1983.
- 8) Glaser, G.H; Penry, J.K. and woodbury D.M. 198 Antiepileptic drugs; Mechanism of action New York, Raven press. P. 1-9.
- 9) Animals models of the epilepsy robert s. Fisher Departaments of Neurology and Neurosurgery, the Johns Hopkins university school of medicine, Baltimore, M D 2, 205 (USA) *Brain reserch Reviews* 114 , P.245-278. 1989.
- 10) Pedro Garzón de la Mora. Aspectos Bioquímicos Farmacológicos de los compuestos Antiepilepticos un enfoque multidisciplinario P. 168-191, 1986.
- 11) Purpura, D.P. et al. Experimental models of epilepsy. New York, Raven press. P. 408-425, 558-582. 1972
- 12) Chauhan, A. K; Dobhal M.P. and Joshi, Bc. A review of medicinal plants showing anticonvulsant activity. *Journal of Ethno pharmacology*. 22. 11-23. 1988.
- 13) Estrada L.E. Evaluación Farmacológica de plantas medicinales. Plantas medicinales de México. Universidad Autónoma de chapingo, P. 603, 1983.

- 14) Ashok. Chauhan Mahaver P. Donhal and Bhowan C. Joshi. A review of medicinal plants showing anticonvulsant activity. *Journal of ethnopharmacology* 22: 11-231. 1988.
- 15) Brodie J. Martin. Epilepsy octet. Established anticonvulsant and treatment of refractory epilepsy. *The Lancet*, II: 350-354, 1989.
- 16) Loiseau P. Do we need antiepileptic drugs. *The British Journal of clinical practice*, 61: 2-3, 1988.
- 17) Goodridge DM.; Shorvon SD. Epileptic seizures in a population; of 6000: demographic, diagnosis and classification; and role of the Hospital services. *Br. Med. J.* 287: 641-647, 1983.
- 18) Juul-Jensen P. ; Foldspiano A. Natural History of epileptic seizures. *Epilepsia* 24: 297-312, 1983.
- 19) Commission on clasification and terminology of the international league against epilepsy, proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures *EPILEPSIA*. 22: 489-501. 1981.
- 20) Commission on clasification and terminology of the international league against epilepsy, proposal por classification of epilepsies and epileptic syndrome *EPILEPSIA*. 26: 268-278. 1985.
- 21) Commission for the control of epilepsy and its consequences, Dhew publication N. (NIH) 78-276 P. 17, 1978.
- 22) Loiseau P. Duche B. Loiseau J. Clasification of epilepsies and epileptic syndromes in two diffent samples of patients. *EPILEPSIA*. 32 (3). p.303-309. May-Jun. 1991.
- 23) Theodore WH. Epileptic seizures and syndromes in adults. *SEMIN NEUROL*. 10 (4) P. 389-95. Dec. 1990.
- 24) Novotny Ej Jr. Epileptic syndromes and seizures in infants. *SEMIN NEUROL*. 10 (4) P. 366-79. Dec. 1990.
- 25) Thadani UM. Williamson P.D. classification of epileptic seizures and syndromes. *SEMIN NEUROL*. 10 (4). p. 328-38. Dec. 1990.
- 26) Marescaux C. Hiirsch. E. Finck S. Maquet P. Schlumberger E. Sellal F. Metz-Lutz MN. Alembik Y salmon. E. Franck G. Landau-Kleffner syndrome. *EPILEPSIA*. 31 (6). P.768-77. Nov-Dec. 1990.
- 27) Epileptic sindromes: genetic, diagnostic, and therapeutic aspects, Ninth annual Merrit-putnam symposium.

December 7, 1989, Boston, Massachusetts. Proceedings. EPILEPSIA. 31 suppl 3p S1-79. 1990.

28) Guillermo Carvajal Sandoval. Planeación de Fármacos Antiepilépticos. Epilepsia un enfoque Multidisciplinario, Capitulo 7; P. 193-208. 1986.

29) Locok, C. Discussion of paper by sieve king, E. H., Analysis of 52 cases of epilepsy observed by author. Lancet. 1: 527. 1857.

30) Vida, J. Medicinal chemistry. A series of monographs- volume 15. New York, Academic press. P. 1-9, 30-52. 1977.

31) Hauptmann, A. Luminal bei epilepsie. Munch. Med. Wochnschr. 59: 1907-1909. 1912.

32) Putnam, T.J. and Merrit, H.H. Experimental determination of the anticonvulsant properties of some phenyl derivates. Sciencie. 85: 525-526. 1937.

33) Caregghino, J.J., Brock, J. T., penry, J.K., Emith, L.D. and white, B. G. Carbamazepine for epilepsy; a controlled prospective evaluation. Neurology. 24: 401-410. 1974.

34) Carraz, G., Fav, R., Chateau, R. and Bonnin., J. First clinical trials of antiepileptic activity of n-dipropylacetic acid (sodium salt). J. Ann. Med. Psychol. 122: 577-585. 1964.

35) Harvey J. Kupferberg. Antiepileptic Drugs Sodium Valproate. Antiepileptic Drugs: Mechanisms of Action. Raven Press, New York P. 643-652. 1980.

36) Susan M. Grant and Rennie C. Heel. Vigabatrin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in Epilepsy and Disorders of motor control. Drugs 41 (6): 889-926. 1991.

37) Armio J. A. y Herraos J. A. Toxicidad de los Fármacos Antiepilépticos. Nuerología, 4 (3): 88-102, 1989.

38) Louis S., Kutt, H. & Mc Dowell, F. The Cardiocirculatory changes caused by intravenous dilatain and its solvent. AM Meart J, 74: 523-529, 1967.

39) Endogenous opioid peptides and epilepsy: quieting the seizing braing. Tortella F. C. trends pharmacol sei oct; 9 (10): 366-72, 1980.

40) Martinez M. Las plantas Medicinales de México. Ed. P. 333-337, 1969.

- 41) Porubek D. J; Grillo MF Baillie TA. The covalent binding to protein of valproic acid and its hepatotoxic metabolite, 2-n-propyl-4-pentenoic acid; in rats in insolated rat hepatocytes. Drug-Metab-Dispos; 17 (2) P. 123-30 , Mar-Apr; 1989.
- 42) Swinyard, A.E. y kupferberg, J.H. Antiepileptic drugs; detection, quantification and evaluation. Federation Proc., 44: 2629-2633, 1985.
- 43) Laird, E. H. Antiepileptic drugs research; an overview. Federation Proc., 44: 2627-2628, 1985.
- 44) Goodman, L.S. et. al. Comparison of maximal crisis evoked by pentylenetetrazol (metrazol) and electroshock in mice and their.
- 45) Garzón, P., Román, S., Navarro, A. y Solis, P. Response of rats to seizures stimulus modified by feeding general pharmacology. 16 (2): 157-160. 1985.
- 46) Delgado , A.V., Treiman, D.M. and walsh, G. O. The treatable epilepsies. New England Journal Medicine. 208: 1508-1514. 1983.