
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Centro Universitario de Ciencias
Biológicas y Agropecuarias



**"ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE LA
ESPARTEINA EN MODELOS EXPERIMENTALES
DE CRISIS EPILEPTIFORMES"**

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE:

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

ANTONIO HERNÁNDEZ TORRES

Las Agujas, Zapopan, Jalisco. Enero del 2004



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

COMITÉ DE TITULACIÓN

**C. ANTONIO HERNÁNDEZ TORRES
P R E S E N T E .**

Manifestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción Tesis con el título **"ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE LA ESPARTEÍNA EN MODELOS EXPERIMENTALES DE CRISIS EPILEPTIFORMES"**, para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado/a como Director de dicho trabajo el/la **DR. PEDRO GARZÓN DE LA MORA** y como Asesor el/la **DR. MARIO ALBERTO RUIZ LÓPEZ**.

**A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, 21 de julio del 2003



**DRA. MÓNICA ELIZABETH RÍOS LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

**M/C. LETICIA HERNÁNDEZ LÓPEZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

c.c.p. DR. PEDRO GARZÓN DE LA MORA.- Director del Trabajo

c.c.p. DR. MARIO ALBERTO RUIZ LÓPEZ.- Asesor del Trabajo

c.c.p. Expediente del alumno

MERL/LHL/mam

C. DRA. MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION
DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de
Titulación EN MODALIDAD: TESIS

que realizó el (la) pasante:
ANTONIO HERNANDEZ TORRES código 092645967 con el
título: "ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE LA ESPARTEINA EN MODELOS
EXPERIMENTALES DE CRISIS EPILEPTIFORMES"

consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para
autorización de impresión y, en su caso, programación de fecha de examen respectivo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos
la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Las Agujas, Zapopan, Jal. 21 DE JULIO del 2003



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

EL DIRECTOR DEL TRABAJO
DR. PEDRO GARZON DE LA MORA

EL ASESOR
DR. MARIO ALBERTO RUIZ LCPEZ

NOMBRE Y FIRMA

NOMBRE Y FIRMA

SINODALES

1.- CARLOS BEAS ZARATE

NOMBRE COMPLETO

2.- Monica Elisa Uena Guerrero

NOMBRE COMPLETO

3.- Carmen Cecilia Hamey Rodiles

NOMBRE COMPLETO

4.- Jacinto Benavente Pineda

NOMBRE COMPLETO

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

RESUMEN

Más de 50 millones de personas en el mundo padecen crisis epilépticas y deben recurrir al uso de medicamentos antiepilépticos, de estas personas un 25-30% padecen crisis de difícil control. Por lo que es necesario aportar nuevas alternativas para el tratamiento de las epilepsias. El efecto antiepiléptico de diversas drogas se ha caracterizado a través de utilizar modelos experimentales de crisis epileptiformes (MECE) y de observar las equivalencias de inhibición de crisis epilépticas convulsivas y no convulsivas en personas con este padecimiento durante las fases preclínica y clínica, utilizando en general procedimientos que corresponden a estímulos eléctricos y químicos. Con este estudio se pretende precisar el efecto anticonvulsionante de la esparteina en crisis epileptiformes inducidas por inhalación de éter de petróleo (EP) y por inyección de pentametilentetrazol (PTZsc) en ratas y compararlo con el efecto anticonvulsionante de la carbamacepina (CBZ).

Se formaron tres grupos experimentales: *Control*, *Testigo* y *Problema*; cada uno de ellos conformados por dos subgrupos, utilizando ratas machos y hembras adultas de la cepa Swiss-Wistar con 250-350 gramos de peso corporal (PC) que resultaron positivas a presentar una crisis convulsiva por inhalación de EP en un periodo de 7 minutos y por una inyección de PTZsc en un periodo de 60 minutos. Se registraron los tiempos de los periodos de latencia, reflejo, ortostatismo y deambulación. Después de la última aplicación de los anticonvulsionantes *Testigo* y *Problema*, se indujeron crisis por inhalación de EP y por inyección de PTZsc.

No se observó alguna diferencia estadística significativa entre los dos métodos de inducción de crisis y entre los sexos utilizados. El porcentaje de inhibición de crisis para el grupo protegido con CBZ fue de 62.5%. Por otro lado, el porcentaje de protección para el grupo protegido con sulfato de esparteina (SE) fue de 77.5%. El SE En una dosis de 40 miligramos/kilogramo mostró un alto efecto anticonvulsionante en los modelos de inducción de crisis por inhalación de éter de petróleo (EP) y PTZsc, en ambos sexos. Lo que hace pensar que este compuesto puede ser una alternativa más para el control de las crisis epilépticas.

"ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE LA ESPARTEINA EN MODELOS EXPERIMENTALES DE CRISIS EPILEPTIFORMES"

RESUMEN.	i
ÍNDICE DE FIGURAS.	v
ÍNDICE DE CUADROS.	vi
ABREVIATURAS.	vii
INTRODUCCIÓN.	1
LAS EPILEPSIAS.	1
Generalidades.	1
Incidencia.	1
Prevalencia.	2
Etiopatogenia.	2
Fisiopatología.	2
Clasificación.	3
Tratamiento.	4
MEDICAMENTOS ANTIEPILEPTICOS.	4
Toxicidad.	5
NEUROTOXICIDAD.	8
ALCALOIDES.	9
Fuente.	9
Importancia histórica.	9
Clasificación.	10
Agrupamiento biogenético.	11

Derivados quinolizidínicos.	12
ESPARTEÍNA.	13
Fuente y toxicidad.	15
MODELOS EXPERIMENTALES DE CRISIS EPILEPTIFORMES (MECE).	16
GABA y glutamato en las epilepsias.	18
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	22
JUSTIFICACIÓN.	24
HIPÓTESIS.	25
OBJETIVOS.	26
OBJETIVO GENERAL.	26
OBJETIVOS PARTICULARES.	26
MATERIAL Y MÉTODOS.	27
UNIVERSO DE ESTUDIO.	27
TIPO DE ESTUDIO.	27
Variable independiente.	27
Variables dependientes.	27
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.	28
CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN.	28
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.	28
ANIMALES.	28
FÁRMACOS.	29
DESARROLLO EXPERIMENTAL.	29
RESULTADOS.	34

DISCUSIÓN.	40
CONCLUSIÓN.	45
BIBLIOGRAFÍA.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.1	Lupanina.	13
Figura No.2	Matrina.	13
Figura No.3	Piptantina.	13
Figura No.4	Esparteína.	14
Figura No.5	Diagrama experimental.	33
Figura No.6	Latencia de crisis epileptiformes	38
Figura No.7	Reflejo de crisis epileptiformes.	38
Figura No.8	Ortostatismo de crisis epileptiformes.	39
Figura No.9	Deambulaci3n de crisis epileptiformes.	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I.	Antiepilépticos y reacciones adversas.	7
Cuadro II.	Algunos modelos experimentales de crisis epileptiformes (MECE).	21
Cuadro III.	Porcentaje de inhibición de crisis.	34
Cuadro IV.	Número de animales protegidos y no protegidos por grupos de tratamiento.	35
Cuadro V.	Valores de X^2 y significancia estadística (p) comparando los grupos de tratamiento.	35
Cuadro VI.	Número y porcentaje de animales protegidos y no protegidos en el grupo CBZ por tipo de inducción de crisis.	36
Cuadro VII.	Número y porcentaje de animales protegidos y no protegidos en el grupo SE por tipo de inducción de crisis.	36
Cuadro VIII.	Promedio $\pm$ el Error Estándar de la Media en los Tiempos de Manifestación de las Variables valuadas.	37



ABREVIATURAS

ANOVA	= Análisis de varianza.
ARN	= Ácido ribonucleico.
BDZ	= Benzodicepina.
Ca ²⁺	= Ión Calcio.
CBZ	= Carbamacepina.
CD ₉₇	= Dosis convulsiva 97 %.
Cl ⁻	= Ión Cloro.
CTRL	= Control.
DFH	= Difenilhidantoína.
EESM	= Electroestimulación supramáxima.
EP	= Éter de petróleo.
ETO	= Etosuccimida.
FB	= Fenobarbital.
FBO	= Felbamato.
FSH	= Hormona folículo estimulante.
GABA	= Ácido γ -amino-butírico.
GAD	= Glutamato descarboxilasa.
GPN	= Gabapentina.
HDL	= Lipoproteínas de alta densidad.
IgA	= Inmunoglobulina A.
IgB	= Inmunoglobulina B.

IgG	= Inmunoglobulina G.
ILAE	= Liga Internacional contra la Epilepsia.
iv	= Intravenoso.
LD ₅₀	= Dosis letal media.
LH	= Hormona luteinizante.
LTA	= Lamotrigina.
LZM	= Levetiracetam.
MECE	= Modelo experimental de crisis epileptiforme.
MES	= Modelo de electroestimulación supramáxima.
MET	= Metrazol.
n	= Número.
Na ⁺	= Ión Sodio.
NMDA	= N-metil-D-aspartato.
OCBZ	= Oxacarbamacepina.
OMS	= Organización Mundial de la Salud.
PC	= Peso corporal.
PRM	= Primidona.
PTZ	= Pentametilentetrazol.
sc	= Subcutáneo.
SE	= Sulfato de esparteina.
SNC	= Sistema Nervioso Central.
TGB	= Tiagabida.
USA	= Estados Unidos de Norteamérica.

VGM = Vigabatrim.

VPA = Valproato de sodio.

INTRODUCCIÓN

LAS EPILEPSIAS

Generalidades

Las epilepsias son consideradas como una afección crónica de etiología diversa, caracterizadas por descargas anormales, recurrentes, excesivas, paroxísticas, autosostenidas e hipersincrónicas de un grupo de neuronas de cualquier parte del cerebro que varían de acuerdo a los circuitos neuronales implicados en su generación, origen y patrón de propagación. Su manifestación clínica varía desde fenómenos de experiencia subjetiva hasta una elevada actividad convulsiva, haciéndose evidente un conjunto de manifestaciones del comportamiento, motoras y clínicas, expresadas de manera espontánea y recurrente, durante la vida de la persona afectada (1).

Incidencia

Tanto la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) como la Organización Mundial de la Salud (OMS) consideran a las epilepsias como una afección cerebral de gran importancia mundial, debido a que afectan actualmente a más de 50 millones de personas en el mundo. Las epilepsias muestran un patrón bimodal de incidencia dependiente de la edad, con una elevación máxima durante los primeros años de vida y otra después de los 60 años. La incidencia reportada corresponde a 44/100,000 personas/año, de las cuales un 60% son clasificadas como crisis parciales (2).

Prevalencia

La prevalencia promedio de las epilepsias es de 10/1,000, con un rango de 2-19/1,000 habitantes, lo cual significa una variación amplia debido a que incluye poblaciones tanto rurales como urbanas en el mundo (3).

Etiopatogenia

Las manifestaciones de las crisis epilépticas en el hombre han estado asociadas con alteraciones cerebrales, provocadas por trastornos durante el desarrollo, lesiones neoplásicas, vasculares, traumáticas, virales, bacterianas, parasitarias, degenerativas y/o lesiones anóxicas, generalmente acompañadas de daño neuronal, gliosis y degeneración dendrítica (4).

Fisiopatología

Las crisis epilépticas se desencadenan como consecuencia del desequilibrio en el sistema nervioso central (SNC) entre los mecanismos sinápticos de excitación e inhibición, en favor de la excitación. Dichos mecanismos suceden mediante neurotransmisores, entre los que se considera al ácido γ -amino-butírico (GABA) como el principal compuesto inhibitorio y, al glutamato como el principal excitador (5-7). Durante la fase de inicio de una crisis convulsiva se presentan:

- I.- Descargas de alta frecuencia de los potenciales de acción
- II.- Hipersincronización de los mismos.

La cascada de ambos eventos se inicia por la despolarización prolongada de la membrana neuronal, que induce la apertura de los canales de sodio (Na^+) dependientes de voltaje. Así, la entrada masiva de Na^+ y la generación de potenciales de acción repetitivos y sumados, se manifiestan como potenciales de hiperpolarización en el electroencefalograma (8).

Las despolarizaciones neuronales excesivas originan descargas de alta frecuencia (potencial de post-descarga) así como cambios hiperpolarizantes compensatorios, que tratan de regular estas descargas. De esta manera, durante la despolarización/ hiperpolarización se induce un reclutamiento de la función normal de un conglomerado de neuronas, denominado foco epiléptico. Por lo tanto, se puede decir que la despolarización/ hiperpolarización y las descargas neuronales excesivas e hipsincrónicas constituyen la esencia de la actividad convulsiva (9).

Clasificación

De acuerdo a sus manifestaciones clínicas y electroencefalográficas, las crisis epilépticas se han dividido en dos grupos principales:

I.- Parciales (focales)

II.- Generalizadas.

Las crisis parciales o focales se deben a la activación de un grupo neuronal limitado de manera anatómica y funcional, donde los signos clínicos y eléctricos quedan circunscritos a una zona restringida del cerebro. Por otro lado, las crisis generalizadas tienen un inicio localizado y se propagan por toda la superficie cortical (1).

El diagnóstico de las epilepsias exige el desarrollo de un proceso clínico y paraclínico, ordenado y progresivo, en donde se va respondiendo a una serie de interrogantes que permiten determinar el tipo de crisis, localización topográfica y manifestación síndrómica, así como el pronóstico de la afección y tratamiento adecuado de la misma (2).

Tratamiento

En la actualidad, el control de las crisis epilépticas es principalmente de tipo farmacológico y, en un 4% de manera quirúrgica. Del total de personas epilépticas del mundo, 25 a 30% padecen crisis de difícil control y son refractarias a la monofarmacoterapia, por lo cual, para reducir la frecuencia de crisis, debe recurrirse a la polifarmacoterapia, sin lograr un control total de sus manifestaciones. La elección de un fármaco anticonvulsionante está basada, hasta donde es posible, en encontrar un tipo específico para cada crisis epiléptica (10, 11).

MEDICAMENTOS ANTIEPILEPTICOS

Actualmente se dispone de varios fármacos para el tratamiento de las crisis convulsivas, de primera y segunda generación. Los fármacos de primera generación son: difenilhidantoinato (DFH) fenobarbital (FB) carbamacepina (CBZ) valproato de sodio (VPA) etosuccimida (ETO) benzodiazepina (BDZ) y primidona (PRM). Por otro lado, los fármacos de segunda generación incluyen: vigabatrim (VGM) gabapentina (GPN) felbamato (FBO) lamotrigina (LTA) oxacarbamacepina (OCBZ) tiagabida (TGB) y

levetiracetam (LZM). El grupo de fármacos de primera generación, en su mayoría han sido identificados por la variación química estructural que presentan en relación a un compuesto conocido (12, 13). Dentro de los fármacos de segunda generación, el VGM y GPN fueron diseñados a través de estrategias fundamentadas en la hipótesis de participación del GABA en la inhibición de las crisis epilépticas (14, 15).

Con el propósito de identificar, desarrollar y estudiar nuevos medicamentos anticonvulsiantes, se han utilizado modelos experimentales de crisis epileptiformes, validados con fármacos de primera generación (16).

De manera general, la fase preclínica ha involucrado dos procedimientos iniciales, que corresponden a la electroestimulación supramáxima (MES) y la administración subcutánea de pentametilentetrazol (PTZsc) (17).

Toxicidad

La mayoría de los compuestos psicoactivos que son utilizados actualmente en el tratamiento de las crisis epilépticas presentan algunas desventajas, como ser hipnóticos y/o adictivos. Cuando los anticonvulsiantes son utilizados por periodos prolongados o permanentes, provocan efectos colaterales indeseables de severidad variable, que en muchas ocasiones impiden a los pacientes seguir una vida normal (cuadro I) (18). El grado de toxicidad es dependiente de la dosis, metabolismo y duración del periodo de administración; sin embargo, en el caso de extractos o infusiones, así como de preparados farmacéuticos a partir de plantas con propiedades medicinales, no se tienen registros de toxicidad o de las posibles interacciones con la combinación de un fármaco y el extracto de una planta medicinal (19). Cuando se realizan estudios con plantas con algún potencial

antiepiléptico, es necesario conocer y esclarecer las reacciones adversas por el uso terapéutico de las mismas, a fin de poder predecir las posibles interacciones entre productos derivados de las plantas y los medicamentos convencionales (20).

Cuadro I. Antiepilepticos y Reacciones Adversas

1.- Alteraciones neuropsicológicas:

- o Sedación: FB y BDZ > DFH, CBZ y VPA.
- o Alteraciones cognoscitivas: FB, DFH y PRM > CBZ y VPA.
- o Alteraciones de la conducta: FB > CBZ, PRM y VPA > DFH.

Movimientos involuntarios:

- o Disquinesias: DFH, ETO y CBZ.
- o Asterixis: DFH, FB, CBZ y VPA.
- o Temblor: VPA y DFH.

Encefalopatía: DFH > CBZ y VPA.

Alteraciones psiquiátricas: FB y DFH > BDZ y ETO > BDZ y ETO > CBZ.

Neuropatías: DFH > FB, PRM y CBZ.

2.- Alteraciones digestivas, hepáticas y pancreáticas:

- o Anorexia: VPA > DFH > CBZ, FB y PRM.
- o Aumento de peso: CBZ y VPA.
- o Aumento de apetito: CBZ y VPA.
- o Náuseas y vómito: VPA > CBZ y PRM.
- o Estreñimiento: FB y CBZ.
- o Diarrea: VPA.
- o Hepatopatías: VPA y DFH > CBZ > FB.
- o Pancreatitis: VPA.

3.- Alteraciones de la piel, conectivo y músculo esquelético:

- o Piel y fanéras: DFH.
- o Cloasmas: DFH.
- o Alopecia y cambio de textura o color de pelo: VPA.
- o Hipertriosis e hirsutismo: DFH.
- o Exantema: DFH y FB > ETO y CBZ.
- o Dermatitis exfoliativa: DFH, FB, PRM y CBZ.
- o Síndrome de Stevens Johnson: DFH, FB, PRM y CBZ.
- o Conectivo: Hiperplasia gingival: DFH > PRM.
- o Facies epilépticas: Politerapia.
- o Contractura de Dupuytren: FB.
- o Hombro congelado: FB y PRM.
- o Miopatías: DFH.

Osteomalacia: DFH y FB.

4.- Alteraciones cardiovasculares, respiratorias, renales, metabólicas, endocrinológicas, hematológicas e inmunológicas:

Cardiovasculares:

- o Hipertensión: DFH iv.
- o Bradicardia: DFH iv y CBZ.
- o Bloqueo arteriovascular: DFH iv y CBZ.

Renales:

- o Neuropatías: Trimetadiona > DFH y CBZ.
- o Cristaluria: PRM.

Metabólicas:

- o Hiperglucemia: DFH.
- o Hiponatremia e intoxicación acuosa: CBZ.
- o Hiperamonemia: VPA.
- o Poliuria y enuresis VPA.

Endocrinológicas:

- o Mayor secreción de FSH y LH: DFH.
- o Mayor secreción de prolactina: DFH, CBZ y FB.
- o Disminución del crecimiento en niños: FB.
- o Alteraciones tiroideas: DFH, CBZ, VPA y PRM.
- o Aumento de HDL-colesterol: DFH, FB y CBZ DFH > VPA.

Hematológicas:

- o Déficit del ácido fólico: DFH, FB y PRM > CBZ y VPA.
- o Macrocitosis: DFH, FB y PRM > CBZ y VPA.
- o Anemia megaloblástica: DFH y FB.
- o Anemia aplásica: DFH, CBZ > PRM y ETO > VPA y BDZ.
- o Agranulocitosis: DFH, FB, ETO y CBZ.
- o Pseudolinfoma: DFH.
- o Trombocitopenia: VPA.

Inmunológicas:

- o Déficit de IgA, IgM e IgG: DFH.
- o Lupus eritematoso: DFH, PRM, CBZ y ETO.

5.- Mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis:

Todos los antiepilepticos.

(Bazil C W, 2003)

NEUROTOXICIDAD

Las funciones del SNC están dadas principalmente por las propiedades de excitabilidad eléctrica de las células nerviosas (neuronas) (21). Las células nerviosas son la unidad funcional del sistema nervioso, son de origen ectodérmico y están constituidas por un cuerpo celular (soma) con múltiples ramificaciones cortas, denominadas dendritas; una ramificación alargada, conocida como axón (neurita) y un espacio citoplasmático alrededor del núcleo, en el cual se distingue un nucléolo prominente, donde se sintetiza el ácido ribonucleico (ARN) (22). Las células gliales, no son excitables y realizan numerosas funciones de gran importancia para el mantenimiento de la homeostasis intracerebral (23). Cuando el SNC responde con una crisis de difícil control o está sometido al efecto de dosis que superan el rango terapéutico de antiepilépticos, se puede presentar:

- A.- Reacción axónica
- B.- Lesión celular aguda
- C.- Atrofia y/o degeneración neuronal
- D.- Depósitos intraneuronales (24).

Por otra parte, además de las funciones de sostén mecánico, los astrocitos intervienen activamente respondiendo ante una lesión cerebral, traumática, bacteriana, viral o farmacológica, con cambios bioquímicos y morfológicos característicos (25). Los astrocitos participan circunscribiendo la zona de lesión, generando una barrera física entre el sitio dañado y el resto del parénquima nervioso. Además, contribuyen en el mantenimiento de la barrera hematoencefálica y la restauración de las funciones neuronales (26).

Los astrocitos activados realizan importantes funciones en la reparación del tejido nervioso, ya que ellos expresan nuevas moléculas y sufren transformaciones morfológicas (incremento en la concentración de factores mitógenos y de crecimiento) que normalmente no son detectados en estado de reposo (27).

ALCALOIDES

Fuente

Los alcaloides forman parte del grupo de metabolitos secundarios de diversas plantas, algunos insectos, invertebrados marinos y microorganismos. Tienen un tipo de estructura química, ruta de biosíntesis y actividades farmacológicas especiales (28).

Durante miles de años han sido aislados y aprovechados de una gran cantidad de organismos terrestres y marinos, como fuente de medicamentos y, en algunos casos como drogas psicotrópicas, debido a sus efectos alucinógenos (29).

Importancia histórica

El descubrimiento y uso de los alcaloides por el hombre data de hace más de 4 siglos, durante los cuales han sido utilizados como drogas, medicamentos, tés, pociones y venenos. Algunos alcaloides fueron preparados a partir de k-estrofantina y utilizados en África y Sudamérica para envenenar flechas y con esto provocar insuficiencia cardíaca aguda a las víctimas. Otros alcaloides como la fisostigmina fueron utilizados en el tratamiento del glaucoma y miastenia grave (30). Por otra parte, a la d-tubocurarina se le

describieron propiedades miorrelajantes y anestésicas; así mismo, se encuentra reportada la reserpina con un carácter terapéutico, como un antihipertensivo eficaz y como droga psicotrópica, o bien, la ajmalina con propiedades terapéuticas útiles en el tratamiento de trastornos del ritmo cardíaco (28, 29).

Al parecer, la primer droga investigada de manera química fue el látex seco de la goma del opio (*Rapaver somniferum*) la cual hasta nuestros días se sigue utilizando como droga, por sus efectos analgésicos y narcóticos (28). En el año de 1803, se aisló un alcaloide semipuro de esta planta caracterizado como morfina. Entre los años de 1817 a 1820, en el laboratorio de Pelletier y Caventou de la facultad de farmacología de París, fueron aislados y caracterizados la estricnina, emetina, brucina, piperina, cafeína, quinina, cinconina y colchicina. Para el año de 1939, el número de alcaloides aislados e identificados estructuralmente ascendió a más de 200 y en el año de 1989, el *Diccionario de Alcaloides* ya incluía información detallada de 10,000 sustancias (30).

Clasificación

Los alcaloides son compuestos nitrogenados heterocíclicos, existentes principalmente en plantas, así como en sus sales más comunes de ácidos: carboxílico, cítrico, láctico, oxálico, málico, tartárico, fumárico, benzoico, aconítico y ácido verátrico. Su carácter amino produce una solución alcalina en el agua; de ahí el origen de su nombre, *alcaloide* (30).

Las propiedades químicas determinadas por el átomo de nitrógeno de los alcaloides condicionan las siguientes variaciones:

-
- a) Aminas secundarias y terciarias. Cuando son regularmente protonados y por lo tanto hidrofílicos a un pH < 7.0, o lo más común; cuando son lipofílicos y no protonados a un pH < 8.0 (alcaloide común).
 - b) Los compuestos amino cuaternarios. Cuando son altamente polares, están completamente cargados a altos valores de pH, generalmente pueden aislarse, tal como sucede con la berberina y la sanguinarina.
 - c) Compuestos aminos neutrales. Incluyen alcaloides como la colchicina, capsaicina y lactamas.
 - d) N-óxidos. Altamente solubles en agua y frecuentemente encontrados en alcaloides pirrolizidínicos (30).

Agrupamiento Biogenético

Debido a que los alcaloides son un grupo diverso de constituyentes químicos, conviene clasificarlos de acuerdo a sus orígenes biogenéticos, por ejemplo: los alcaloides indólicos, derivados del triptófano, incluyen a otros dentro de esta categoría como terpenoides indólicos. Dentro del grupo los alcaloides indólicos se encuentran numerosos subgrupos dependientes del modo de ciclización tras remover la glucosa por estricatosidina. Los ocho subgrupos han sido identificados: corianteanos, aspidospermatanos, iboganos, estricananos, plumeranos, ebumanos, valesiacotamanos y aparicinos (29).

Numerosos alcaloides son derivados de aminoácidos, entre los cuales es posible reconocer cuatro grupos:

1.- Alcaloides derivados de aminoácidos como arginina, lisina, histidina, fenilalanina, tirosina, triptófano, ácido antranílico y ácido nicotínico.

2.- Alcaloides derivados de purinas tales como la xantina y cafeína.

3.- Terpenos aminados, como el diterpeno aconitina o el diterpeno solanina.

4.- Alcaloides poliquétidos, como la coniina y coccinelina.

Estos dos últimos grupos han ido incrementando conforme se han investigado más profundamente, a organismos marinos e insectos. Además, en estos dos grupos el carácter del nitrógeno no análogo puede influenciar o dominar en las propiedades de la sustancia como se observa cuando se consideran las propiedades semejantes en las saponinas de los alcaloides esteroides de las solanáceas. La producción de los alcaloides ha sido muy estudiada en plantas, en las cuales los experimentos realizados con precursores radioactivos han colocado las bases y permitido comprender el proceso de biosíntesis de los grupos de alcaloides de mayor importancia (28, 29).

Derivados Quinolizidínicos

La formación del núcleo quinolizidínico semeja al de las pirrolizidinas, el cual por derivar de la lisina origina anillos de seis vértices en lugar de cinco; es decir que les permite crecer a través de añadir un anillo de piperidina derivado de la lisina para proporcionar alcaloides como la lupanina (Figura 1) y la matrina (Figura 2) o bien, añadir dos anillos de piperidina para dar origen a la piptantina (Figura 3).

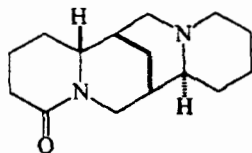


Figura 1.- Lupanina

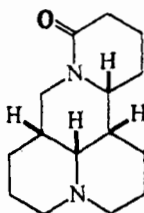


Figura 2.- Matrina

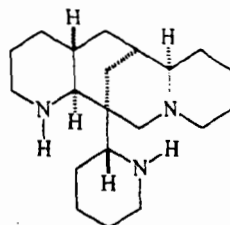


Figura 3.- Piptantina

(Wink M, 1998)

La familia más importante en la producción de alcaloides quinolizidínicos es la Papilionoideae. Además, existen otras familias en las cuales se han reconocido estos alcaloides: Berberidáceas, Ranunculáceas, Solanáceas, Quenopodiáceas y Rubiáceas.

Por otra lado, se ha reportado que la presencia de alcaloides quinolizidínicos en Escrofulariáceas, Santaláceas, Lorantáceas y Cuscutáceas. debido a una transferencia de estas sustancias que van de la planta parasitada (huésped) a las especies hospederas (parásitas o hemiparasíticas) (28).

ESPARTEINA

La esparteina (Figura 4) generalmente ha sido aislada de la leguminosa *Cytisus scoparius*. Las partes aéreas de esta planta contienen desde 0.8 a un 2% de alcaloides, siendo la esparteina el mayor componente.

Dentro de sus usos farmacéuticos se encuentran varios medicamentos en el mercado como: Anxoral™, Ariven™, Cardipax™, Cordi sanol forte™, Depasan™, Diffucord™, Digi-pulsnorma™, Gelsadon™, Hypolind™, Hypotonin™, Jatamansin™, Kanovenol™, Morfi™, Normotin™, Palpipax™, Perivar™, Pulsnorma™, RR-plus™, Sedol™, y Tachynerg™ (30).

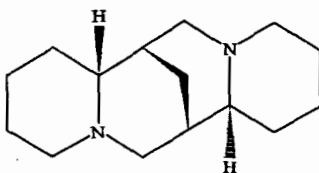


Figura 4. Esparteina
(Wink M, 1988)

Estos fármacos han sido utilizados en el tratamiento de arritmias cardiacas e inducción de contracciones uterinas. Sin embargo, aproximadamente un 10% de los pacientes que la utilizan no pueden metabolizarla, por lo que es necesario esclarecer quienes son los pacientes incapaces de metabolizar este compuesto, así como sucede con otros fármacos (28).

Por otro lado, en la medicina tradicional las plantas que presentan este alcaloide son utilizadas como diurético, actividad que puede estar relacionada con la acción ionotrópica positiva de la esparteina, así como a la presencia de diuréticos flavonoides (29). La esparteina inhibe los canales de Na^+ , así como el transporte del mismo a través de las membranas. Además, activa los receptores de acetilcolina muscarínicos. Como resultado de lo anterior, modula la conductividad del músculo cardíaco. En dosis pequeñas estimula; el ganglio autonómico y en dosis elevadas lo paraliza (28, 29).

Fuente y Toxicidad

Todas las plantas del género *Lupinus* de la familia Fabaceae contienen alcaloides quinolizidínicos (28). Diferentes especies de plantas tienen numerosos tipos de alcaloides y dentro de una especie vegetal se encuentran generalmente cuatro o cinco alcaloides importantes y varios de menor importancia, en cuanto a cantidad y función se refiere. El contenido total y proporciones de estos varía entre especies, de acuerdo al lugar de crecimiento de la planta y estación del año. El rango total de las concentraciones de alcaloides oscila entre 0,01 y 4%, dependiendo de la especie de la planta y de la parte de la misma. La síntesis de los precursores de los alcaloides se realiza principalmente en la raíz, luego estos son transportados por el floema hasta las hojas, que son el lugar de mayor síntesis de los alcaloides, cuya tasa biosintética guarda relación con una actividad diurna de los cloroplastos, que por ende involucra la mayor actividad en las hojas verdes para recibir y utilizar la luz en las reacciones enzimáticas intracloroplásticas. Una vez que madura la planta, los alcaloides presentes en las hojas son transferidos a las flores y desaparecen posteriormente cuando se seca la hoja (30).

Los alcaloides presentan un sabor amargo, se cree que con la finalidad de repeler a los insectos y mamíferos herbívoros que pretenden alimentarse de las plantas que presentan estas sustancias. La intoxicación causada por los alcaloides quinolizidínicos de los lupinos es referida como un envenenamiento de tipo agudo (29).

Por otra parte, la actividad farmacológica de los alcaloides quinolizidínicos subyace en la reducción de la amplitud de la contracción del músculo cardíaco y fibrilaciones, aunque a dosis elevadas provoca depresión respiratoria, hipotensión, bloqueo neuromuscular y cianosis. Estos signos y síntomas de intoxicación inician con náusea,

alteración visual y respiratoria, ataxia, debilidad progresiva y coma (30).

Los alcaloides sintetizados de los lupinos son de seis a ocho veces más tóxicos si son administrados por vía intraperitoneal (ip) en animales de experimentación que por la vía oral. La esparteina y lupanina son los dos alcaloides más abundantes en los lupinos y a los que se les refiere mayor toxicidad. En base a estudios previos se sabe que la dosis letal media (LD_{50}) de la esparteina en ratón, por vía intraperitoneal es de 55-67 miligramos/kilogramo de peso corporal (pc); en cambio, por vía oral es de 350-510 miligramos/kilogramo de pc. Por otra parte, la LD_{50} de la lupanina por vía intraperitoneal en ratón es de 80 miligramos/kilogramo de pc(28).

MODELOS EXPERIMENTALES DE CRISIS EPILEPTIFORMES (MECE)

Los modelos experimentales de crisis epileptiformes (MECE) son aceptados por la ILAE, entre los se encuentra la electroestimulación supramáxima (EESM) y el pentametilentetrazol vía subcutánea (PTZsc) utilizados en la fase preclínica para la evaluación del tamizaje de los compuestos anticonvulsionantes. Con la EESM se inducen crisis tónicas de los miembros posteriores en los roedores, por medio de una descarga eléctrica de 120 V a 200 mA, mediante electrodos bicornales o biauriculares. Estos modelos son útiles en la identificación de aquellas sustancias potencialmente eficaces contra las crisis generalizadas tónico-clónicas en humanos (31).

Por otra parte, si se utiliza la dosis convulsiva 97% (CD_{97}) de PTZsc para inducir crisis generalizadas clónicas y mioclónicas en roedores, es posible identificar aquellos

compuestos potencialmente efectivos en el control de crisis de ausencia y mioclónicas en humanos, ya que limitan la propagación de la descarga de los potenciales de acción. evocados por la despolarización sostenida de las neuronas (32). Existen otros reportes, que proponen que el modelo de EESM puede llegar a ser útil para identificar sustancias con potencial anticonvulsionante en las crisis parciales (33); sin embargo, los estudios experimentales y clínicos realizados con antiepilépticos de segunda generación como el VGM o antagonistas de receptores a glutamato han demostrado que no es apropiado para identificar este tipo de crisis (34). En otros estudios se ha demostrado que el modelo de elección para identificar fármacos eficaces en la actividad epiléptica parcial es el modelo de estímulo eléctrico repetido en la amígdala (Kindling) (35).

Con respecto al mecanismo mediante el cual los medicamentos antiepilépticos ejercen su acción, se describen las siguientes tres categorías:

- 1.- Bloqueo del disparo repetitivo, sostenido, de alta frecuencia de los potenciales de acción, por bloqueo de los canales de Na^+ dependientes de voltaje.
- 2.- Aumento en la inhibición de la neurotransmisión GABAérgica.
- 3.- Inhibición del disparo repetitivo de potenciales de acción, por bloqueo de los canales de Ca^{2+} -I (34).

La propiedad de un compuesto antiepiléptico para bloquear las crisis tónico-clónicas generalizadas y algunas formas de crisis parciales, está relacionada con la capacidad de los mismos para inhibir el disparo repetitivo (35); a diferencia de los fármacos de amplio espectro antiepiléptico, que además de bloquear el disparo repetitivo, aumentan la inhibición GABAérgica (36, 37).

GABA y Glutamato en las Epilepsias

La neurotransmisión GABAérgica esta mediada por receptores GABA_A y GABA_C postsinápticos, macromoléculas acopladas a un canal para el ión cloro (Cl⁻) y GABA_B presinápticos y postsinápticos, acoplados a sistemas de segundos mensajeros (37). La deficiencia cerebral de GABA provocada experimentalmente, coincide con el desarrollo de crisis convulsivas, al bloquear su acción, alterar o inhibir las enzimas que participan en su síntesis (Glutamato descarboxilasa [GAD]) o mediante el incremento del catabolismo del GABA por la actividad de la GABA-transaminasa (38). Por otra parte, la acción excitadora del glutamato implica también la participación de receptores, entre los cuales destaca el correspondiente a N-metil-D-aspartato (NMDA). Después de una activación prolongada de receptores NMDA con agonistas "*in situ*" se presenta despolarización tónica de neuronas talámicas y, sus antagonistas provocan el bloqueo de potenciales postsinápticos excitadores (39).

Por otro lado, al incrementar la actividad de receptores a NMDA y bloquear la neurotransmisión GABAérgica es posible desencadenar crisis convulsivas (40). También, en el hipocampo de ratas sensibles a crisis convulsivas inducidas por "Kindling" se ha demostrado una hipersensibilidad a los agonistas de NMDA mediada por sus receptores. Lo mismo ha sido observado en focos epilépticos de cerebros humanos, donde además se ha reportado disminuida la actividad de GAD. Estos resultados apoyan a la propuesta que sustenta que la activación de las crisis epilépticas está mediada por la neurotransmisión glutamatérgica (41). Por otra parte, los astrocitos y oligodendrocitos desempeñan un papel importante en estos mecanismos de excitabilidad neuronal, ya que los astrocitos son capaces de capturar GABA desde el espacio intersináptico (42). También se ha postulado

que los receptores GABA/BDZ participan en la génesis de las crisis epilépticas, al utilizar un ligando del receptor a benzodiacepinas. Asimismo, en biopsias de cerebros humanos con epilepsia focal se ha comprobado una disminución de estos receptores en el seno del foco epiléptico (43). No obstante, es posible que en la génesis de la excitabilidad neuronal también estén involucrados otros mecanismos, capaces de inducir la tendencia de las neuronas a realizar descargas paroxísticas anormales a través de mecanismos intrínsecos o extrínsecos a la neurona (44).

Entre los mecanismos intrínsecos podemos mencionar:

- A.- Cambios en la conductancia de canales iónicos
- B.- Alteraciones de las respuestas características en los receptores de membrana
- C.- Cambios en los sistemas de segundos mensajeros
- D.- Expresión de las proteínas.

En cambio, entre los mecanismos extrínsecos encontramos:

- A.- Modulación de receptores mediante iones extracelulares y otras moléculas
- B.- Propiedades temporales y espaciales del flujo sináptico y no sináptico
- C.- Cambios en la cantidad o el tipo de neurotransmisores presentes en las sinápsis (32, 33).

La mayoría de los nuevos conocimientos con respecto a las epilepsias han surgido gracias al empleo de los MECE tanto “*in vivo*” como “*in vitro*”. Estos han permitido probar nuevos abordajes terapéuticos farmacológicos o no farmacológicos para el control de las crisis epilépticas (45).

En la actualidad, pese a que existe una amplia diversidad de MECE aún no se ha logrado establecer la analogía con los diferentes tipos de crisis epilépticas; sin embargo, son las estrategias de acercamiento a las crisis epilépticas más conocidas y accesibles (cuadro II) (43). Los MECE más estudiados son el "Kindling" y la aplicación tópica de alúmina o de penicilina en la corteza cerebral (46).

Cuadro II. Algunos Modelos Experimentales de Crisis Epileptiformes (MECE)

TIPO DE CRISIS	MECE
Parciales simples, Agudas	Convulsionantes tópicos: Penicilina, bicuculina, picrotoxina, estricnina, colinérgicos, anticolinérgicos y otros. Estimulación eléctrica aguda. Supresión de GABA. Cortes cerebrales neocorticales.
Parciales simples, Crónicas	Metales implantados corticalmente: Hidróxido de aluminio, cobalto, tungsteno, zinc y hierro. Lesión criogénica. Inyecciones de anticuerpos antigangliosidos. Epileptogénesis focal-sistémica.
Tónico-clónicas Generalizadas	Genéticas: Mandriles fotosensibles, crisis audiogénicas en ratones, ratones atáxicos (<i>tottering</i>), ratas propensas de manera genética, gerbil mongólico, <i>Drosophila (shaker)</i>. Electrochoque máximo. Convulsionantes químicos: PTZ, bemegrida, picrotoxina, bicuculina, sulfoximida, metionina, penicilina y otros. Alteraciones metabólicas: Hipoxia, hipoglucemia, oxígeno hiperbárico, hipercapnia, uremia, supresión de drogas y altas temperaturas.
Parciales complejas	Ácido kaínico, toxina tetánica, inyecciones en el área tempestad, Kindling. Cortes cerebrales: Cortes hipocámpales en roedores, preparación de células aisladas y tejido neuroquirúrgico humano.
Generalizadas de ausencia	Estimulación talámica, focos corticales bilaterales, penicilina sistémica, gama hidróxibutirato, opiáceos intraventriculares.
<i>Estatus epilepticus</i>	Litio-pilocarpina, cobalto-homocisteína, estimulación recurrente.

(Morgan F, 1999)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, actualmente se presenta una prevalencia del 2% de pacientes con crisis epilépticas. De éstas el 25% corresponden a personas con crisis de difícil control, en quienes la mayoría de las ocasiones es necesario recurrir a la administración de hasta cuatro medicamentos antiepilépticos, e inclusive indicar resecciones quirúrgicas del foco epileptogénico debido a que las personas presentan recidivas de las crisis.

Los problemas de calidad de vida del enfermo subyacen en la dificultad de incorporarse a la sociedad, debido a que sufren de problemas de aceptación laboral; trayendo con esto una serie de problemas de tipo económicos y familiares; además de que la evolución de su padecimiento lo imposibilita para vivir con la seguridad ordinaria.

Por otra parte, en México no se producen aún los fármacos necesarios para tratar este tipo de enfermedades, por lo que deben ser importados.

Debido a lo anterior es necesario buscar nuevas alternativas útiles en el abordaje de esta enfermedad, explorando en los recursos naturales, como los extractos de plantas con usos medicinales, como es el caso de los lupinos que contiene compuestos con estructuras químicas conocidas (alcaloides); en particular aquellos que están vinculados con compuestos sintetizados con propósitos médicos, como en el caso de la esparteina utilizada como antiarrítmico cardíaco, cuyo efecto es parecido al del difenilhidantoinato (DFH) compuesto antiarrítmico y antiepiléptico, que como este pudiera presentar también un efecto antiepiléptico.

Consecuentemente, en el presente estudio se pretende conocer el efecto inhibitorio de crisis convulsivas de la esparteina mediante los modelos de inducción de crisis por

inhalación de éter de petróleo (EP) y por inyección subcutánea de pentametilentetrazol (PTZsc).

JUSTIFICACIÓN

Actualmente se reconoce la existencia de fármacos antiepilépticos de primera y segunda generación que han sido estudiados a través de modelos experimentales de crisis epileptiformes (MECE) y son administrados en regímenes de mono y polifarmacoterapia para el control de las crisis epilépticas, que en algunos casos no es posible cubrir los tipos de crisis epilépticas observables en los seres humanos, ni las crisis de difícil control que en ocasiones requieren del uso de hasta cuatro medicamentos por la falta de especificidad de los mismos. En consecuencia, es necesario diseñar y/o buscar nuevas estructuras químicas potencialmente antiepilépticas.

HIPÓTESIS

La esparteina, alcaloide quinolizidínico, abundante en plantas del género *Lupinus*, posee una capacidad anticonvulsionante, semejante a las propiedades de la carbamacepina (CBZ) en modelos experimentales de crisis epileptiformes (MECE).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Precisar la actividad anticonvulsionante de la esparteina en los modelos de inducción de crisis por inhalación de éter de petróleo (EP) y por inyección de pentametilentetrazol (PTZsc) en ratas de la cepa Swiss Wistar.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Caracterizar las crisis convulsivas inducidas en ratas tanto hembras como machos por inhalación de EP.
- 2.- Conocer la respuesta de protección de la carbamacepina (CBZ) sobre la acción convulsionante del EP.
- 3.- Precisar la capacidad de protección con la esparteina a la acción convulsionante del EP y del PTZsc.

MATERIAL Y MÉTODOS

UNIVERSO DE ESTUDIO

Se utilizaron ratas adultas machos y hembras de la cepa Swiss-Wistar con 250-350 gramos de peso corporal (pc). Inicialmente, los animales que integraron el grupo control fueron seleccionados mediante un método de inducción de crisis por una inyección de pentametilentetrazol (PTZsc) en el espacio interescapular y por inhalación de éter de petróleo (EP) (47, 48). Los animales debieron presentar una crisis convulsiva ante el estímulo por PTZ y EP en un tiempo no mayor de 30 y 7 minutos respectivamente, para ser considerados como positivos a estas pruebas (48).

El procedimiento experimental consistió en 3 grupos: *Control* (CTRL/EP y CTRL/PTZ) *Testigo* (CBZ/EP y CBZ/PTZ) y *Problema* (SE/EP y de SE/PTZ) tanto en animales hembras y machos.

TIPO DE ESTUDIO

Experimental, prospectivo, transversal y comparativo.

Variable independiente

Dosis de los fármacos anticonvulcionantes: testigo y problema.

Variables dependientes

Porcentaje de protección, tiempos de latencia, duración del reflejo, ortostatismo y deambulación.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Animales que cumplieron con un pc no menor de 250 gramos y no mayor de 350 gramos, que se encontraron en un estado de salud óptimo y que respondieron positivamente a la sustancias inductoras de crisis convulsivas experimentales.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

Animales que no respondieron a las sustancias inductoras de crisis convulsivas experimentales.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Animales que murieron durante los ensayos. Y animales que excedieron del peso máximo requerido.

ANIMALES

Los animales recibieron una alimentación balanceada (Ralston Rations USA) y agua *ad libitum*, y fueron mantenidos dentro de un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 horas, con una temperatura ambiental 22 ± 2 °C y una humedad del 50% en el bioterio del Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Los experimentos se efectuaron a las 08:00 horas, en las instalaciones del Instituto de Enfermedades Crónico Degenerativas del Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la Universidad de Guadalajara.

FÁRMACOS

Como sustancias inductoras de crisis epileptiformes se utilizaron PTZ y EP. CBZ como anticonvulsionante testigo y esparteina en estado sulfatada (SE) como anticonvulsionante problema.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Los animales que resultaron positivos a presentar una crisis convulsiva con los dos métodos anteriormente mencionados fueron incluidos en un grupo inicial, excluyendo a los animales que no presentaron crisis; obteniendo así un número inicial de 120 machos y 120 hembras.

El procedimiento experimental constó de 3 grupos: *Control* (animales intactos) *Testigo* (animales que fueron protegidos con CBZ) y *Problema* (animales protegidos con SE) cada uno de estos divididos a su vez en dos subgrupos, integrado por 20 hembras y 20 machos.

Así, el grupo *Control* fue formado por animales PTZ positivos a los cuales no se les administró ningún fármaco anticonvulsionante. Fueron divididos en dos subgrupos, con 20 hembras y 20 machos, cada uno. El primer subgrupo fue sometido a una inducción de crisis con inhalación de EP y, el segundo subgrupo correspondió a la prueba con PTZsc.

El grupo *Testigo* estuvo formado por animales PTZ positivos y EP positivos a los cuales se les administró CBZ aplicada directamente dentro de la cavidad gastrointestinal del animal mediante una cánula metálica de extremo romo, en una dosis diaria de 30 miligramos/kilogramo de pc, ajustado a un volumen de 0.5 mililitros con agua bidestilada,

administrada en dos sesiones (media dosis diaria cada 12 horas) durante una semana consecutiva, a fin de lograr mantener los niveles de la CBZ en el torrente sanguíneo dentro de un rango terapéutico de acuerdo a su vida media. Trascurrido un tiempo de tres veces el intervalo de vida media de la CBZ (7 días) (48). Una hora después de la última aplicación del anticonvulsionante, se les indujo al primer *Subgrupo Testigo* una crisis por inhalación de EP y, al segundo *Subgrupo Testigo* por inyección de PTZsc.

El grupo *Problema* estuvo integrado por animales a los cuales se les administró SE aplicada directamente dentro de la cavidad gastrointestinal mediante una cánula metálica de extremo romo, en una dosis diaria de 40 miligramos/kilogramo de pc ajustado a un volumen de 0.5 mililitros con agua bidestilada, administrada en dos sesiones (media dosis diaria cada 12 horas) durante una semana consecutiva. Una hora después de la última aplicación del anticonvulsionante, se les indujo a los animales del primer *Subgrupo Problema* una crisis por Inhalación de EP y a los animales del segundo *Subgrupo Problema* se les indujo una crisis con una inyección de PTZ.

Para el método de inducción de crisis con EP se utilizó como cámara un desecador de cristal Pyrex, dividido en dos compartimentos mediante un soporte de acrílico con perforaciones de 1 centímetro de diámetro y con 2 centímetros de distancia entre cada uno de estos. Fue colocado el EP en una caja de Petri de cristal en la base de la cámara por debajo del soporte con un volumen inicial de 15 mililitros. Después de 15 minutos de saturación de la cámara se colocó un animal dentro de ésta. Se registraron los tiempos de los siguientes periodos: latencia (tiempo ocurrido desde que el animal fue colocado dentro de la cámara hasta el momento que presentó una crisis). El animal fue retirado de la cámara y colocado en una caja de acrílico para observar los siguientes periodos: reflejo (tiempo

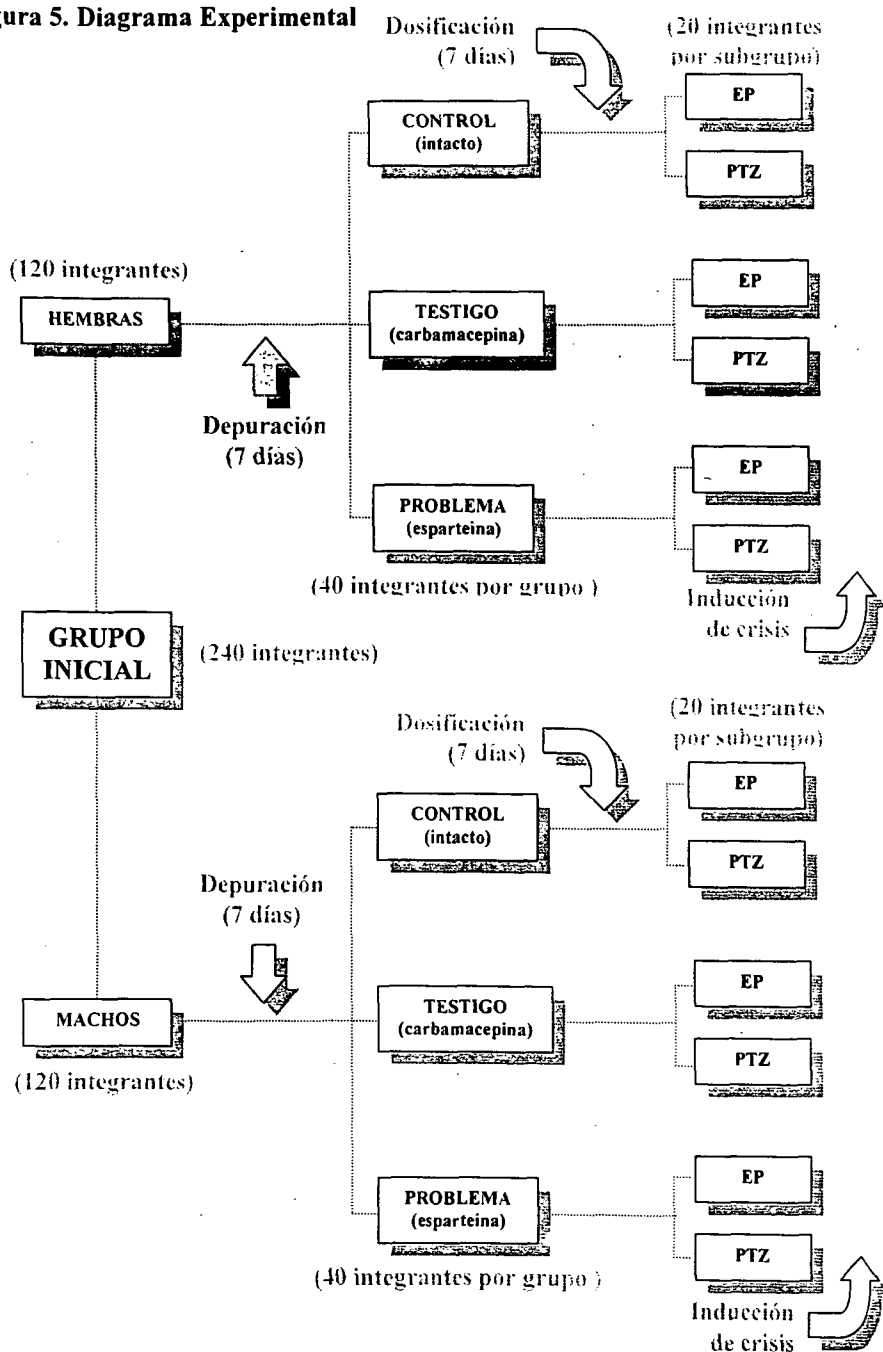
ocurrido desde el inicio de la crisis hasta el final de ésta); ortostatismo (tiempo ocurrido desde que finalizó la crisis hasta la incorporación del animal sobre sus cuatro extremidades); y deambulación (tiempo ocurrido desde que el animal se incorporó sobre sus cuatro extremidades hasta que comenzó a deambular). Para realizar la prueba de un siguiente animal se dejó saturar la cámara durante 7 minutos, se colocó un nuevo animal dentro de esta, repitiendo el procedimiento anterior. Transcurridas dos pruebas se ajustó el volumen inicial de EP dejando saturar la cámara durante 15 minutos nuevamente.

La inducción de PTZsc consistió en aplicar una inyección subcutánea de pentametilentetrazol, en una dosis de 60 miligramos/kilogramo de pc, en un volumen de 0.1 mililitros de solución salina fisiológica. Los animales fueron observados durante los siguientes 30 minutos en una caja de acrílico y se registraron los tiempos de los periodos de latencia, que correspondió al tiempo transcurrido desde aplicación del PTZsc al momento de presentar una crisis; reflejo (periodo trascurrido desde la aparición de la crisis hasta el final de ésta); ortostatismo, que inició con la incorporación del animal sobre sus cuatro extremidades; y deambulación (cuando el animal comenzó a deambular). Se registraron los tiempos correspondientes a los periodos de: latencia, reflejo, ortostatismo y deambulación mediante las dos pruebas de inducción de los animales.

Al final de las pruebas, los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico mediante un análisis de varianza multifactorial para una variable dependiente y un análisis de varianza de dos vías no paramétrico (Kruskal-Wallis) y una prueba *a posteriori* al ANOVA para comparaciones múltiples de grupos (Student Newman Keuls Method) evaluando las variables dependientes por cada uno de los factores ($p < 0.001$) utilizando el programa Sigmastat para Windows Versión 1.0 y SPSS versión 6.0. Se

realizaron pruebas de χ^2 para comparar los tiempos de los animales protegidos contra los no protegidos, según el método de inducción de crisis y su sexo, utilizando el programa Epi info versión 2000.

Figura 5. Diagrama Experimental



RESULTADOS

La esparteina en estado sulfatada (SE) actuó como anticonvulsionante de manera similar a la carbamacepina (CBZ) en los modelos de éter de petróleo (EP) y pentametilentetrazol vía subcutánea (PTZsc) aunque ambos presentaron variaciones en su capacidad respectiva de protección (cuadro III). La CBZ, mostró una acción anticonvulsionante bastante alta, sobre los modelos de EP y PTZsc, en relación al grupo *Control*, siendo en el modelo de EP en el que se observó una mayor capacidad de inhibición de crisis (cuadro VI). En cambio el SE mostró un porcentaje de protección mayor alto en el modelo de PTZsc, que en el modelo de EP (cuadro VII).

Cuadro III. Porcentaje de Inhibición de Crisis

GRUPO	SUBGRUPO	PORCENTAJE DE PROTECCIÓN	ANIMALES PROTEGIDOS	ANIMALES NO PROTEGIDOS
CTRL/EP	MACHOS	00%	00/20	20/20
	HEMBRAS	00%	00/20	20/20
CTRL/PTZ	MACHOS	00%	00/20	20/20
	HEMBRAS	00%	00/20	20/20
CBZ/EP	MACHOS	80%	16/20	04/20
	HEMBRAS	90%	18/20	02/20
CBZ/PTZ	MACHOS	35%	07/20	13/20
	HEMBRAS	45%	09/20	11/20
SE/EP	MACHOS	70%	14/20	06/20
	HEMBRAS	40%	08/20	12/20
SE/PTZ	MACHOS	100%	20/20	00/20
	HEMBRAS	100%	20/20	00/20

Nota: El porcentaje de protección se estimó considerando a los animales que no presentaron ningún evento convulsivo del total de 40 animales para cada grupo.

estadísticamente significativa entre los valores medios de los tiempos de las variables evaluadas en los modelos de EP y PTZsc, es decir, que los métodos de inducción de crisis utilizados en el estudio tiene un comportamiento similar entre ellos (Cuadro III). Tampoco existe una diferencia estadísticamente significativa entre los dos sexos utilizados. A diferencia de los tratamientos (*Control*, *Testigo* y *Problema*) en los que entre ellos si existe una diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) (cuadro V). Debido a lo anterior los datos de los animales tratados fueron analizados, sin tomar en consideración su sexo o método de inducción de crisis, siendo el grupo; la única variable dependiente.

Cuadro IV. Número de Animales Protegidos y No Protegidos por Grupos de Tratamiento.

ANIMALES	CTRL	CBZ	SE
	No.	No.	No.
Protegidos	00	50	62
No Protegidos	80	30	18
T o t a l	80	80	80

$$X^2_{(2)} = 108.62; p < 0.001$$

Cuadro V. Valores de X^2 y Significancia Estadística (p) Comparando los Grupos de Tratamiento.

GRUPOS	X^2	p
CTRL - CBZ	72.73	$p < 0.001$
CTRL - SE	101.2	$p < 0.001$
CBZ - SE	04.29	$p < 0.05$

Cuadro VI. Número y Porcentaje de Casos Protegidos y no Protegidos en el Grupo CBZ por Tipo de Inducción de Crisis.

ANIMALES	EP		PTZ	
	No.	%	No.	%
Protegidos	34	85.0	16	40.0
No Protegidos	06	15.0	24	60.0
T o t a l	40	100.0	40	100.0

$$\chi^2 = 17.28; p < 0.001$$

Cuadro VII. Número y Porcentaje de Casos Protegidos y No Protegidos en el Grupo SE por Tipo de Inducción de Crisis.

ANIMALES	EP		PTZ	
	No.	%	No.	%
Protegidos	22	55.0	40	100.0
No Protegidos	18	45.0	00	00.0
T o t a l	40	100.0	40	100.0

$$\chi^2 = 23.23; p < 0.001$$

Por otro lado, para aquellos animales que presentaron una crisis convulsiva ante el estímulo inductor de las mismas, a pesar de haber recibido CBZ o SE respectivamente como anticonvulsionante, mostraron de manera general un cierto porcentaje de protección de tipo parcial con respecto al grupo control, es decir, que fue evidente un aumento en la latencia, en especial en el grupo medicado con CBZ, en el que el tiempo promedio de latencia fue más de tres veces mayor en comparación con la latencia del grupo CTRL, es

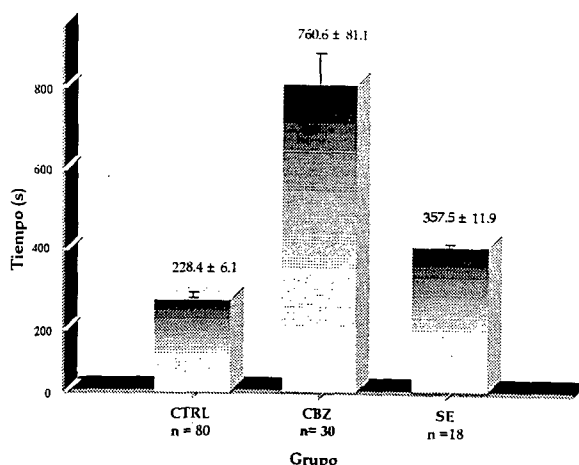
decir, que hubo un incremento en el tiempo de aparición de crisis teniendo mejores resultados el grupo CBZ que el grupo SE (figura 6). La recuperación más rápida la tuvieron los animales integrantes del grupo CTRL en comparación con el grupo CBZ y SE (Figuras 7, 8, 9). Dicho de otra manera, el evento convulsivo en aquellos animales que presentaron una crisis, a pesar de haber recibido uno de los dos anticonvulsionantes, tuvieron una recuperación más tardía en comparación con el grupo CTRL, en el que el grupo dosificado con SE se acerca más a los valores obtenidos con el grupo CTRL, en comparación con el grupo CBZ, que fue el grupo que presentó una recuperación más tardía (figuras 6-9).

Cuadro VIII. Promedio $\pm$ el Error Estándar de la Media en los Tiempos de Manifestación de las Variables Evaluadas

GRUPO	SUBGRUPO	LATENCIA	REFLEJO	ORTOSTATISMO	DEAMBULACIÓN
CTRL	EP	Machos 297 $\pm$ 10	18 $\pm$ 09	33 $\pm$ 14	32 $\pm$ 14
		Hembras 221 $\pm$ 19	22 $\pm$ 19	74 $\pm$ 22	82 $\pm$ 44
	PTZ	Machos 199 $\pm$ 09	18 $\pm$ 08	50 $\pm$ 10	27 $\pm$ 25
		Hembras 197 $\pm$ 12	19 $\pm$ 12	57 $\pm$ 10	22 $\pm$ 14
CBZ	EP	Machos 326 $\pm$ 04	23 $\pm$ 09	32 $\pm$ 03	24 $\pm$ 05
		Hembras 205 $\pm$ 16	05 $\pm$ 18	31 $\pm$ 16	05 $\pm$ 07
	PTZ	Machos 923 $\pm$ 208	33 $\pm$ 56	34 $\pm$ 246	70 $\pm$ 291
		Hembras 827 $\pm$ 195	41 $\pm$ 22	43 $\pm$ 240	54 $\pm$ 400
SE	EP	Machos 319 $\pm$ 39	19 $\pm$ 39	39 $\pm$ 56	17 $\pm$ 71
		Hembras 376 $\pm$ 16	07 $\pm$ 26	60 $\pm$ 16	14 $\pm$ 26
	PTZ	Machos *	*	*	*
		Hembras *	*	*	*

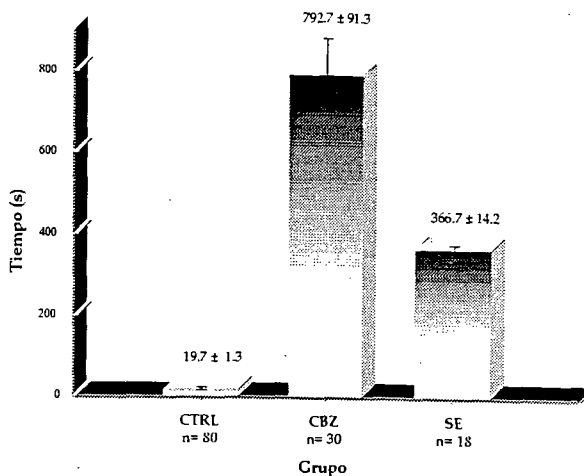
Nota: Los valores representan la media $\pm$ el error estándar de la media. Los tiempos están representados en segundos. * Animales que no presentaron crisis convulsiva.

Figura 6. Latencia de Crisis Epileptiformes



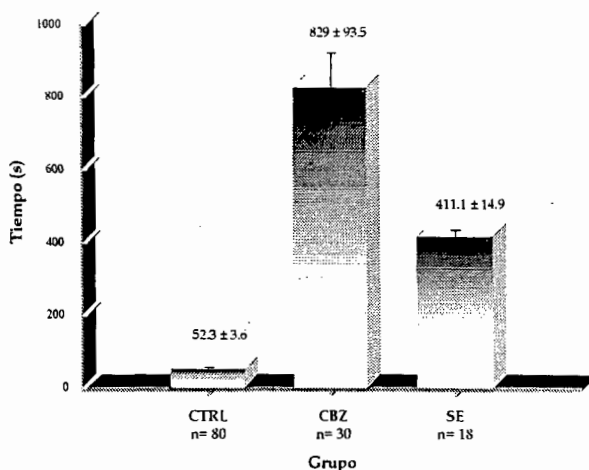
Nota: La gráfica muestra únicamente el tiempo promedio de aquellos animales que presentaron crisis convulsiva $\pm$ el error estándar de la media (cuadro III). $p < 0,001$ CTRL vs CBZ, CTRL vs SE, CBZ vs SE.

Figura 7. Reflejo de Crisis Epileptiformes



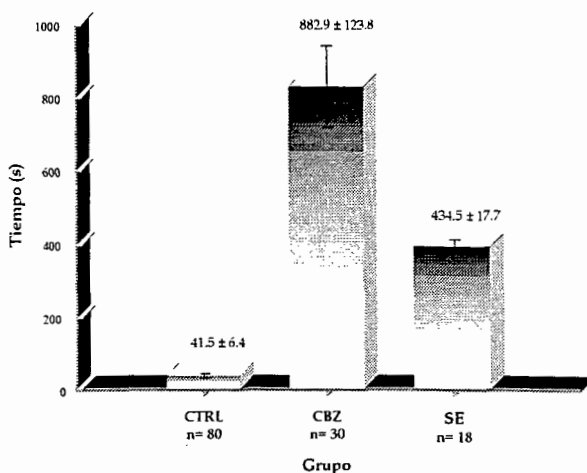
Nota: La gráfica muestra únicamente el tiempo promedio de aquellos animales que presentaron crisis convulsiva $\pm$ el error estándar de la media (cuadro III). $p < 0,001$ CTRL vs CBZ, CTRL vs SE, CBZ vs SE.

Figura 8. Ortostatismo de Crisis Epileptiformes



Nota: La gráfica muestra únicamente el tiempo promedio de aquellos animales que presentaron crisis convulsiva $\pm$ el error estándar de la media (cuadro III). $p < 0,001$ CTRL vs CBZ, CTRL vs SE, CBZ vs SE.

Figura 9. Deambulación de Crisis Epileptiformes



Nota: La gráfica muestra únicamente el tiempo promedio de aquellos animales que presentaron crisis convulsiva $\pm$ el error estándar de la media (cuadro III). $p < 0,001$ CTRL vs CBZ, CTRL vs SE, CBZ vs SE.

DISCUSIÓN

La esparteina es un alcaloide inicialmente utilizado con bases etnofarmacológicas en el tratamiento de arritmias cardíacas y en el control de la diuresis (49, 50). Además, se han realizado estudios respecto al efecto de la esparteina sobre la secreción de insulina en células de islotes pancreáticos, con la finalidad de precisar la capacidad que presenta dicho alcaloide de estimular la secreción de esta hormona hipoglucemiante, activando los canales de K^+ dependientes de ATPasa *in vitro* (51).

En la farmacología cardiovascular el uso de la esparteina ha sido bastante documentado como un antiarrítmico cardíaco. En el área de la farmacogenética, existe el interés de precisar la tendencia genética que presentan algunos individuos de responder a los efectos de la esparteina como medicamento, encontrando en algunos pacientes cierto condicionamiento genético de respuesta, como ocurre con otros fármacos (52).

Según se mencionó en la hipótesis de este estudio, el difenilhidantoinato sódico (DFH); fármaco de primera generación, representa un recurso eficaz en el tratamiento de las arritmias cardíacas (52, 53) al igual que la esparteina. El DFH, además de utilizarse como un antiarrítmico cardíaco, también es usado de manera selectiva para inhibir de manera general, las crisis convulsivas y, en caso de los modelos experimentales de crisis epileptiformes (MECE) protege eficazmente contra crisis inducidas por electroestimulación supramáxima (EESM) (52, 53). Esto lleva a pensar que la esparteina, que también ha sido considerada como un antiarrítmico cardíaco importante, actuando en la regulación de los potenciales del miocardio (53) puede inhibir los potenciales de postdescarga, de manera que si se observará en un electroencefalograma, se encontraría una diferencia en el tipo de

registros. Este supuesto parece estar acorde con el efecto anticonvulsionante de la esparteina en estado sulfatada (SE) en los modelos evaluados de este estudio.

La carbamacepina (CBZ) un fármaco antiepiléptico de amplio espectro, mostró un porcentaje de protección bastante alto contra crisis inducidas por los modelos de éter de petróleo (EP) o pentametilentetrazol (PTZsc) (cuadro III) al igual que el valproato (VPA) y el fenobarbital (FB) evaluados en otros estudios (54) de los que se sabe que el FB y, el VPA en menor efectividad, actúan inhibiendo las crisis convulsivas y no convulsivas (55).

Por otro lado, el sulfato de esparteina (SE), a una dosis de 40 miligramos/kilogramo de peso corporal (pc), mostró ser un protector de crisis inducidas por los modelos pentametilentetrazol (PTZsc) y éter de petróleo (EP) (cuadro III). Además, se observó que en los casos en que el SE no fue capaz de inhibir por completo las crisis convulsivas, mostró una tendencia a prolongar el tiempo de la latencia y a aminorar la duración en los periodos de reflejo, ortostatismo y deambulación, en comparación con el grupo CBZ.

Aunque aún hace falta conocer el mecanismo de acción por el cual el SE inhibe las crisis epileptiformes, lo anterior hace suponer, que incrementa el umbral de excitabilidad en las células de los animales premedicados con SE; en un mecanismo probablemente muy semejante al de la CBZ (51, 56).

Es evidente que existe una ligera diferencia en la respuesta a los modelos de EP y PTZsc además del sexo. Esto último, aunque estadísticamente no sea significativo, estas diferencias se explican en base al ciclo menstrual, condicionado por los estrógenos (cuadro VIII). En el caso de la mujer, tiene prácticamente las mismas probabilidades de presentar una crisis intensa en cualquier fase dentro del período estrogénico de su ciclo menstrual (54), la progesterona y los derivados 5 α y 5 β -pregnan-3, 20-diona, alo-pregnadiona y

pregnandiona, inhiben la excitabilidad del SNC (55). La finalidad de incluir animales del sexo hembras en el estudio, fue con el interés de obtener valores promedio de respuesta al EP y establecer la capacidad inhibitoria promedio de la CBZ, así como del SE, en analogía a un comportamiento promedio durante la fase estrogénica del ciclo menstrual de la rata.

Las dosis probadas de la CBZ y del SE reflejaron una actividad anticonvulsionante en los modelos de PTZsc y EP, al ser capaz de evitar que se produjera una crisis convulsiva en animales premedicados durante 7 días con dichos compuestos.

Los reportes sobre el uso del modelo de PTZsc son importantes en la orientación y selección de compuestos con potencial antiepiléptico durante la fase experimental, ya que los compuestos que inhiben de manera eficaz estas crisis, como el SE, podrían llegar a ser utilizados en personas que padezcan crisis no convulsivas, tales como crisis de ausencia, aquinéticas, atónicas etc., como sucede con el fenobarbital (FB), etosuccimida (ETO) . CBZ y VPA o bien la gabapentina (GPN) y el vigabatrim (VGM) entre los compuestos de segunda generación (54).

Por otro lado, las crisis convulsivas inducidas en el modelo EP, permiten plantear la aceptación de dicho modelo como una alternativa más en los modelos experimentales de crisis epileptiformes MECE, con el propósito de aportar nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de las crisis epilépticas (49, 50). Las crisis de tipo EESM que se pueden obtener en este modelo, han sido comparadas con las obtenidas por el modelo EESM y, aunque se reproducen en un máximo de 70%, son idénticas en cuanto respecta al reflejo extensor y periodos de reflejo, ortostatismo y deambulación, correspondiendo al periodo de latencia un tiempo mayor, tal como sucede con las crisis de tipo MET, inducidas con PTZsc. En consecuencia, pese a que la variación del peso corporal (pc) contribuye a la

respuesta en las crisis que se presentan con EP, semejantes a las crisis inducidas con EESM, aún se requiere ajustar este modelo haciendo posible incrementar el porcentaje de respuesta al EP.

Las crisis con EP, se indujeron con la finalidad de comparar la respuesta de este modelo, con la de un procedimiento bastante conocido, como es el modelo de PTZsc, por la semejanza de sus crisis resultantes, utilizando diversos medicamentos antiepilépticos, encontrando como resultado que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos obtenidos en estos modelos.

Es necesario esclarecer los mecanismos fisiopatológicos de la inducción de crisis epileptiformes en el modelo de EP, haciendo uso de varios recursos de distinta naturaleza que nos permitan determinar el efecto causal de las crisis, además de estudiar los mecanismos de acción de la esparteina como un nuevo medicamento antiepiléptico (48, 49).

Según se indicó en el cuadro II, existen una diversidad de MECE, los cuales podrían aumentar tanto como la diversidad de los sitios de los cuales surgen los potenciales de postdescarga en el cerebro; por lo tanto, tal parece ser que conforme surgen nuevos MECE que corresponden a los mecanismos de generación de las crisis epileptiformes, hace más cercana la posibilidad de explicar los mecanismos etiopatogénicos de la generación de las crisis, lo cual conducirá con mayor éxito en la búsqueda de recursos que supriman definitivamente y no en forma transitoria las crisis epilépticas, como ocurre hasta el momento; es decir, que se requiere encontrar recursos antiictiogénicos más que antiepileptogénicos.

Sin embargo, sin intentar ser reduccionista ni sincretista, el fenómeno biológico de las crisis epilépticas es el mismo para todos los casos, implicando una alteración de tipo focal en la respuesta neuronal, en los que se incrementa el voltaje del potencial de acción, los cuales, sumados llevan a una despolarización masiva en tiempo y perfil diferente a las despolarizaciones que en ese momento se están suscitando en el resto de las áreas cerebrales, que posee el o los focos epileptogénicos (50).

Por otra parte, de manera importante, se hace mención de algunos sistemas de neurotransmisión involucrados en la regulación de los procesos de excitación e inhibición de las redes neuronales, debido al equilibrio que debe existir en los mismos dentro del SNC; además, porque existe una tendencia a utilizar métodos de conjugación *in vitro* con ligandos, complementarios con los MECE.

Respecto a los nuevos métodos, no corresponde al presente estudio demostrar las ventajas y/o desventajas de cada uno de los modelos en comparación con el procedimiento de inducción de crisis con EP, ya que tanto el efecto de esta sustancia, como la acción de PTZsc y el EESM, han sido esclarecidos, además de que estos últimos han sido bastante empleados, al igual que otros modelos, como son: el "kindling" o el depósito de crema de alúmina en corteza cerebral (57).

CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos en este estudio, se aportan dos nuevos compuestos útiles en la fase experimental de las epilepsias; por un lado el EP es capaz de inducir la aparición de crisis convulsivas, correspondientes a las crisis que se inducen cuando se utiliza el modelo de PTZsc. Y por otro lado, la esparteina promete ser un compuesto con un potencial antiepiléptico, al inhibir en un porcentaje bastante alto en el modelo EP y en su totalidad las crisis provocadas con PTZsc (cuadro III). Presentando un comportamiento muy semejante, incluso superior a la CBZ.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. (1989) 30: 389-99.
- 2.- Wallace H, Shorvon S y Tallis R. Age-specific incidence and prevalence rates of treated epilepsy in an unselected population of 2 052 922 and age-specific fertility rates of women with epilepsy. *The Lancet*. (1998) 352 (9145): 1970-1973.
- 3.- Karaac N, Yeni S N, Senocak M, Bozluolcay M, Savrun F K, Özdemir H y Caatay P. Prevalence of epilepsy in Silivri, a rural area of Turkey. *Epilepsia*. (1999) 40 (5): 637-642.
- 4.- Armstrong D D y Mizrahi E M. Pathologic basis of the symptomatic epilepsies in childhood. *Journal of Child Neurology*. (1998) 13 (8): 361-374.
- 5.- Ure J A y Perassolo M. Update on the pathophysiology of the epilepsies. *Journal of the Neurological Science*. (2000) 177 (1): 1-36.
- 6.- Avoli M. GABAergic mechanisms and epileptic discharges. En: *Neurotransmitter and cortical function: from molecules to mind*. Eds. Avoli M, Reader T A, Dykes R W y Gloor P. Plenum. New York. (1988) pp 187-205.
- 7.- Gale K. GABA in epilepsy: The pharmacologic basis. *Epilepsia*. (1989) 30 (3): S1-S11.
- 8.- Lothman E W. Basic mechanisms of seizure spread. *Epilepsy Research*. (1996) 11: 9-16.
- 9.- Loscher W y Ebert U. Basic mechanisms of seizure propagation: Targets for rational drug design and rational polypharmacy. *Epilepsy Research*. (1996) 11: 17-44.
- 10.- Sabers A y Gram L. Drug treatment of epilepsy in the 1990s: Achievements and new

developments. *Drugs*. (1996) 52: 483-496.

11.- Deckers C L, Czuczwar S J, Hekster Y A, Keyser A, Kubova H, Meinardi H, Patsalos P N, Renier W O y Van R. Selection of antiepileptic drug polytherapy based on mechanism of action: The evidence reviewed. *Epilepsia* (1999) 41 (11): 1364-1374.

12.- Wolfgang L. New visions in the pharmacology of anticonvulsant. *European Journal of Pharmacology*. (1998) 342: 1-13.

13.- Perucca E. The new generation of antiepileptic drugs: Advantages and disadvantages. *British Journal of Clinical Pharmacology*. (1996) 42: 531-543.

14.- Bazil C W y Pedley T A. Advances in the medical treatment of epilepsy. *Annual Review of Medicine*. (1998) 49: 135-147.

15.- Grant S M and Heel R C. Vigabatrim. A review of its pharmacodynamics and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in epilepsy and disorders of motor control. *Drugs*. (1991) 41: 889-296.

16.- Kupferberg H. Animal Models Used in the Screening of Antiepileptic Drugs. *Epilepsia*. (2001) 42 (4): 7-12.

17.- White H S. Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. *Epilepsia*. (1997) 39 (1): S9-17.

18.- Mattson R H. Efficacy and adverse effects of established and new antiepileptic drugs. *Epilepsia*. (1995) 36 (2): S13-26.

19.- Kalviainen R, Aikia M y Riekkinen P J. Cognitive adverse effects of antiepileptic drugs: Incidence, mechanisms and therapeutic implications in CNS. *Drugs*. (1996) 5: 358-368.

-
- 20.- Armijo J A y Herranz J L. Toxicidad de los fármacos antiepilépticos. *Neurología*. (1989) 4 (3): 28-50.
- 21.- Bazil C W y Pedley T A. Clinical pharmacology of antiepileptic drugs. *Clinical Neuropharmacology*. (2003) 1: 38-52.
- 22.- McKee T y McKee J R. Ácidos nucleicos En: *Bioquímica, La base molecular de la vida*. Ed. González de Buitrago J M. McGraw-Hill Interamericana. (2003) 3^{er} Ed. 17: pp 564-608.
- 23.- Marty S, Dussaret I y Peschanski M. Glial changes following an excitotoxic lesion in the CNS Microglia/macrophages. *Neuroscience*. (1991) 45 (3): 529-39.
- 24.- Gerhmann J, Matsumoto Y y Kreutzberg G. Microglia: Intrinsic immunoeffector cell of the brain. *Brain Research Review*. (1995) 20: 269-287.
- 25.- Forgie M L y Kolb B. Manipulation of gonadal hormones in neonatal rats alters the morphological response of cortical neurons to brain injury in adulthood. *Behavioral Neuroscience*. (2003) 117 (2): 257-262.
- 26.- Yongmei C y Swanson R A. Astrocytes and Brain Injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. (2003) 23 (2): 137-149.
- 27.- Eddleston R y Muke L. Molecular profile of reactive astrocytes implications for their role in neurologic disease. *Neuroscience*. (1993) 54: 15-36.
- 28.-Wink M. Quinolizidine alkaloids: Biochemistry, metabolism and function in plant cell suspension cultures. *Planta Medicine*. (1987) 53: 509-514.
- 29.- Aslanov K A. Kushmuradov Y K y Sadykov A S. Lupine alkaloids. En: *The alkaloids* Ed. Brossi A. Academic Press. (1998) 117-192.
- 30.- Roberts M F and Wink M. Alkaloids. In: *Alkaloids, biochemistry, Ecology and*
-

Medical Applications. Ed. Roberts M F. Plenum Press. (1998) 1 pp 1-6.

- 31.- Marti M y Cabrera López J C. Nuevos fármacos antiepilépticos. *Canarias Pediátrica*. (2000) 24 (1) 23-29.
 - 32.- Dingledine R, McBain C J y McNamara J O. Excitatory amino acid receptors in epilepsy. *Trends Pharmacological Science*. (1990) 11: 334-338.
 - 33.- Kohling R, Vreugdenhil M, Bracci E y Jefferys J G. Ictal epileptiform activity is facilitated by hippocampal GABA_A receptor-mediated oscillations. *Journal of Neuroscience*. (2000) 20 (18): 6820-9.
 - 34.- Zilles K, Qü M S, Köhling R y Speckmann E J. Ionotropic glutamate and GABA receptors in human epileptic neocortical tissue: Quantitative in vitro receptor autoradiography. *Neuroscience*. (1999) 84 (4): 1051-1061.
 - 35.- Loscher W y Schmidt T. Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Research* (1988) 2: 145-181.
 - 36.- Porter R J y Rogawski M A. New antiepileptic drugs: from serendipity to rational discovery. *Epilepsia*. (1992) 33 (1): S1-6.
 - 37.- Leite J P y Cavalheiro E A. Effects of conventional antiepileptic drugs in a model of spontaneous recurrent seizures in rats. *Epilepsy Research*. (1995) 20 (2): 93-104.
 - 38.- Upton N. Mechanisms of action of new antiepileptic drugs: Rational design and serendipitous findings. *Trends in Pharmacological Sciences* (1994) 15: 456-463.
 - 39.- Meldrum B S. Glutamate as a Neurotransmitter in the brain: Review of physiology and pathology. *Journal of Nutrition*. (2000) 130: 1007S- 1015S.
 - 40.- Chapman A G. Glutamate and epilepsy. *Journal of Nutrition*. (2000) 130: 1043S- 1045S.
-

-
- 41.- Vezzani A, Rizzi M, Conti M y Samarin R. Modulatory role of neuropeptides in seizures induced in rats by stimulation of glutamate receptors. *Journal of Nutrition*. (2000) 130: 1046S-1048S.
- 42.- Garzón De la Mora P, Román Maldonado S, Navarro Ruiz A y Solís Cámara V P. Response of rats to seizure stimulus modified by feeding. *General Pharmacology*. (1985) 16 (2): 157-160.
- 43.- Fisher R S. Animal models of the epilepsies. *Brain Research Reviews*. (1989) 14: 245-278.
- 44.- Loscher W, Honack D y Fassbender C P. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylentetrazole seizure models. *Epilepsy Research*. (1991) 8: 171-89.
- 45.- Morgan F. Drug treatment of epilepsy. *British Medical Journal*. (1999) 318:106-109.
- 46.- Perucca E. The clinical pharmacology of the new antiepileptic drugs. *Pharmacology Research* (1993) 28: 89-106.
- 47.- Noguez J H, Mayet A L, Fuentes I y González Esquivel D F. The distribution of 10-hydroxy carbamazepine in blood compartments. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* (1997) 18 (1): 17-23.
- 48.- Garzón de la Mora P, Sánchez Enríquez S, García López P, García Estrada J y Navarro Ruiz A. Petroleum ether is an efficacious experimental model of epileptic seizures in rats. *Neuroscience Methods* (en prensa). (2003).
- 49.- Sánchez Enríquez S. Desarrollo de un Nuevo procedimiento de inducción de crisis epileptiformes con éter de petróleo para estudiar la efectividad de fármacos anticonvulsivos. Tesis de Maestría, Postgrado en Farmacología. Universidad de
-

Guadalajara (2003).

- 50.- White H S. Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. *Epilepsia*. (1997) 39 (1): S9-17.
- 51.- García López P M, Garzón de la Mora P, Wysocka W, Maiztegui B, Alzugaray M E, and Borelli M I. Enhancing effect of *Lupinus* quinolizidine alkaloids upon insulin secretion. *British Journal of Pharmacology*. (En prensa). (2003).
- 52.- Mestre M, Djellas Y, Carriot T y Cavero I. Frequency-independent blockade of cardiac Na^+ channels by riluzole: comparison with established anticonvulsants and class I anti-arrhythmics. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. (2002) 14 (2): 107-117.
- 53.- Nacht S y Garzón de la Mora P. Effects of corticosteroids on connective tissue and fibroblast. *Advances on steroids biochemical pharmacology*. (1974) 4: 157-187.
- 54.- Kubova A H, Meinardi H, Patsalos P N, Renier W O y Van T C. Selection of antiepileptic drug politherapy based on mechanisms of actions the evidence reviewed. *Epilepsia*. (2000) 11 (11): 1364-1374.
- 55.- Shneker B F y Fountain N B. *Epilepsy. Disease a Month*.(2003) 49 (7): 426-78.
- 56.- Bazil C W. New antiepileptic drugs. *Neurology*. (2002) 8 (2):71-81.
- 57.- Rasore-Quartino A y Frenquellucci G. Pharmacokinetics of cytochrome P-450. *Pathologica* (1993) 85 (1097): 395-410.