

ACCION ANTICONVULSIVANTE DE LOS INHIBIDORES DE LA MONOAMINO OXIDASA

LUIS G. RIOJA UGAZ

Para la evaluación de fármacos anticonvulsivantes, se han usado una serie de métodos experimentales con los más variados resultados. Una de las técnicas que ha demostrado buena correlación con la eficacia clínica anticonvulsiva está basada en la habilidad de ciertos fármacos para alterar el carácter de la crisis producida por el electroshock supramáximo (12).

El hecho de que los anticonvulsivantes clásicos: barbitúricos e hidantoínas, ejerzan sus efectos protectores anticonvulsivantes, acompañados de sedación del sistema nervioso central, ha mantenido la inquietud de los investigadores por encontrar el anticonvulsivante ideal. Estudios realizados por Prockop et al. en 1959, han mostrado que los inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO) evitan en las ratas la presentación de la fase de extensión tónica del tren posterior, producida por el choque eléctrico supramáximo. A diferencia de los anticonvulsivantes clásicos los inhibidores de la monoaminooxidasa poseen cualidades psicoanalépticas (29).

Se han acumulado evidencias en la última década, indicando que la 5-HT, es un constituyente normal del sistema nervioso central, de importancia en el funcionamiento de éste sistema.

Entre sus múltiples funciones, varios investigadores han sugerido una posible interrelación entre los niveles de 5-HT cerebral y la excitabilidad del sistema nervioso central. (22-29).

Pan S. et al. en 1961, encontraron que un inhibidor de la monoaminooxidasa, la Nialamida, potenció el efecto anticonvulsivante de la difenilhidantoína, y Ortiz, A. en 1963 demostró la acción protectora de varios IMAO frente a las convulsiones inducidas por la estricnina (27).

El propósito del presente trabajo es: presentar una modificación del método del electroshock máximo desarrollado por Goodman, (12) con-

* Tesis presentada por el autor para graduarse como Bachiller en Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en Mayo de 1965.

sistente, en la graficación de las respuestas de los animales a la vez que se estudia la acción anticonvulsivante de tres IMAO (Anfetamina, Nialamida y Tranilcipromina) y el sinergismo de acción anticonvulsivante de los IMAO con los anticonvulsivantes clásicos (Fenobarbital y Metoína) tratando al mismo tiempo de arrojar alguna luz acerca del desconocido mecanismo de la acción anticonvulsivante de los IMAO.

A modo de comparación y para poder estudiar sinergismo se determinó anticonvulsivante del Fenobarbital y la Metoína.

MATERIAL Y METODOS

Material: 1. *Animales:*

Los animales usados en el presente trabajo fueron ratas albinas adultas, obtenidas del bioterio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la U.N.M. de S. M., por su docilidad y uniformidad en las respuestas (12), con un peso entre 180 y 260 gramos, sin distinción de sexo. Los animales tenían libre acceso a la comida y al agua, excepto durante el período de experimentación. Cada animal fue usado sólo una vez, para evitar la influencia que un electroshock supramáximo previo podría tener sobre el siguiente.

Para determinar el umbral del electroshock supramáximo se usaron 95 ratas.

Para determinar la DP_{50} (Dosis protectora 50%) al electroshock supra máximo se usaron 175 ratas; en la determinación de la DL_{50} (Dosis letal 50%) se usaron 152 ratas y para determinar el sinergismo anticonvulsionante se usaron 120 ratas.

2. *Fármacos:* Se usaron:

a) *Fenobarbital*. (Acido 5-fenil-5-etilbarbitúrico) En soluciones con agua destilada, de tal manera que el fármaco fuera administrado a concentraciones óptimas por vía intraperitoneal y en dosis progresivamente crecientes.

Se administró 30 minutos antes del estímulo eléctrico.

b) *Metoína*. (3-metil-5-fenil-5-etil hidantoína) diluida en agua destilada y propilenglicol, para obtener soluciones que permitieran la administración de concentraciones óptimas, en dosis progresivamente crecientes por la vía intraperitoneal. La administración se efectuó 40 minutos antes del estímulo eléctrico.

c) *Anfetamina*. (1-fenil-2-amino-propano) Diluida en agua destilada, en dosis progresivamente crecientes, por vía intraperitoneal, cuatro horas antes del estímulo eléctrico.

d) *Nialamida*. (N-bencilcarbamil etilamino-isonicotinamida). Diluida en agua destilada, en dosis progresivamente crecientes, por vía intraperitoneal la administración del fármaco se efectuó ocho horas antes de la aplicación del estímulo eléctrico.

e) *Tranilcipromina*. (Trans-dl-2-fenil-ciclopropilamina sulfato). Diluida en agua destilada para obtener soluciones que permitieran la administración de concentraciones óptimas, en dosis progresivamente crecientes, vía intraperitoneal, una hora antes del estímulo eléctrico.

La aplicación del electroshock supramáximo se efectuó a tiempos variables, de la administración de cada fármaco de acuerdo con el tiempo de mayor efecto anticonvulsionante para el fenobarbital, Metoína y durante el periodo de mayor elevación de 5HT cerebral, para los IMAO (23, 27, 28, 33).

3. Aparatos:

Se usó un estimulador eléctrico marca Arthur H. Thomas CO, los electrodos se conectaron con dos pinzas metálicas que se colocaban en la piel del animal experimentado entre la comisura externa del ojo y la oreja (altura de los lóbulos temporales). Se usó una caja de sujeción para rata, especialmente diseñada para los registros de las convulsiones provocadas por el E.S.M.; consistente en una caja de madera de 20 cm. de largo por 8 cm. de ancho y por 8 cm. de alto. La parte anterior de la caja tiene un cepo que fija la cabeza de la rata evitando que ésta retroceda. A los costados de la caja y paralelamente a ella existen dos jeringas hipodérmicas fijas, pero que conservan la capacidad de acción del émbolo, el cual tiene unido un gancho, que corre merced a una ranura que tiene la caja de sujeción; siendo igual en los dos lados y donde se fijan las patas posteriores del animal. De cada jeringa hipodérmica sale un tubo de goma que va a unirse a un tubo metálico en Y, que conecta con un tambor inscriptor de Marey (Fig. Nº 5 y 6).

Los movimientos de las patas posteriores de la rata determinan desplazamiento de los émbolos de las hipodérmicas, los mismos que se registran en un quimógrafo para obtener la gráfica respectiva.

Métodos:

1.— *Determinación de la Convulsión Experimental:*

El método que se usó para provocar las convulsiones experimentales es el de electroshock supramáximo (E.S.M.) descrito por Goodman y Swinyard (12) y modificado por A. Ortiz.

La modificación consiste, en registrar gráficamente los movimientos de extensión y flexión del tren posterior de la rata. Se coloca la rata en la caja de sujeción, se fija la cabeza con el cepo mencionado, se procede a atarle las patas posteriores a los ganchos respectivos del émbolo de las jeringas hipodérmicas. Se aplican los electrodos a la piel de la cabeza del animal (a la altura de los lóbulos temporales). Las jeringas deben contener 3cc. de aire para que haya una presión discreta, de este modo puede obtenerse un buen registro en el sistema incriptor de los movimientos de las patas posteriores del animal, que se traducen por la presión de aire que se ejerce.

Estando el mecanismo preparado se procede a aplicarle la descarga eléctrica, respondiendo la rata con movimientos de flexión, extensión o pataleo de su tren posterior, que van a ser registrados en el papel, por el sistema incriptor.

De esta manera se ha podido determinar y registrar el umbral para el E. S. M., que, al igual que en el método original, se traduce por una extensión tónica del tren posterior.

2. *Determinación del efecto Anticonvulsivante:*

Se investigó el efecto anticonvulsivante de los fármacos que se estudian en el presente trabajo, mediante las variaciones que presentaban los animales después de la aplicación del E.S.M., previa administración del fármaco en estudio.

Se utilizaron:

a) Un grupo de 30 ratas, divididas en 6 lotes de 5 animales cada uno, a los que se administró fenobarbital en dosis crecientes que variaron de 5 mg. a 60 mg./Kg. de peso, 30 minutos antes del estímulo eléctrico.

b) Un grupo de 45 ratas dividido en 7 lotes o 10 animales cada uno; a los que se administró Metoína en dosis progresivamente creciente que variaron de 1 mg. a 80 mg./Kg. de peso, 40 minutos antes del E.S.M.

c) Un grupo de 30 ratas dividido en 6 lotes, de 5 animales cada uno a los que se administró Anfetamina en dosis que variaron de 1 mg. a 40 mg./Kg. de peso, cuatro horas de la estimulación eléctrica.

d) Un grupo de 40 animales dividido en 8 lotes de 5 animales cada uno, a los que se administró Nialamida en dosis crecientes que variaron de 1 mg. a 300 mg. Kg. de peso, 8 horas antes de la estimulación eléctrica.

e) Un grupo de 30 ratas dividido en 6 lotes de 5 animales cada uno, a los que se les administró Tranilcipromina, en dosis progresivas que variaron de 0.10 mg. a 100mg./Kg. de peso, una hora antes del estímulo eléctrico.

3. Determinación de la DL_{50}

Se determinó la DL_{50} de cada uno de los fármacos utilizados procediéndose de la siguiente manera:

a) Un grupo de 30 ratas dividido en 6 lotes de 5 animales cada uno, a los que se administró Fenobarbital en dosis progresivas que variaron de 100 a 400 mg./Kg. de peso.

b) Un grupo de 30 ratas, divididos en 6 lotes de 5 animales cada uno, se les administró Metoína en dosis progresivas que variaron de 250 a 700 mg. Kg. de peso.

c) Un grupo de 42 ratas divididas en 7 lotes de 6 animales cada uno, se les administró Anfetamina en dosis progresivas que variaron de 40 a 180 mg./Kg. de peso.

d) Un grupo de 35 ratas divididas en 7 lotes de 5 animales cada uno, a los que se administró Nialamida en dosis progresivas de 400 a 1000 mg./Kg. de peso.

e) Un grupo de 35 ratas divididas en 6 lotes de 5 animales cada uno (uno de los lotes tuvo 10 ratas), a las cuales se les administró Tranilcipromina en dosis que variaron de 160 a 200 mg. Kg. de peso.

A todos los animales que murieron se les practicó la necropsia, para descartar error de técnica en la administración.

4. Determinación del Sinergismo Anticonvulsivante

Se dividió a los animales en dos grandes grupos, a uno de los cuales se le administró Fenobarbital, y, al otro Metoína, asociados cada uno, con los tres I.M.A.O. (Anfetamina, Nialamida y Tranilcipromina), y se procedió de la siguiente manera:

a) *Fenobarbital mas Inhibidores de la Monoaminoxidasa:*

Se usaron 60 ratas divididas en tres grupos de cuatro lotes, cada uno de cinco animales.

Cada grupo recibió una dosis igual a la DP_{16} (Dosis Protectora 16%) de cada I.M.A.O. La Anfetamina se administró 4 horas antes del estímulo eléctrico; para la Nialamida la administración se efectuó 8 horas antes; y, para la Tranilcipromina se usó una dosis de 0.5 mg. Kg. de peso, que produce buena inhibición de la MAO sin efectos centrales marcados, 1 hora antes del estímulo eléctrico.

Las dosis de Fenobarbital que se usaron fueron aquellas que no pudieron proteger a las ratas en más del 50% (22, 20, 10 y 5 mg./Kg.).

La administración de Fenobarbital se realizó 30 minutos antes del estímulo eléctrico, a los animales que previamente habían recibido su respectivo I.M.A.O.

b) *Metoína mas Inhibidores de la Monoaminoxidasa*

Se usaron 60 ratas divididas en tres grupos de 4 lotes, cada uno de 5 animales.

Cada grupo recibió una dosis igual a la DP_{16} de cada I.M.A.O.

La Anfetamina, se administró 4 horas antes del estímulo eléctrico; para la Nialamida la administración se efectuó 8 horas antes y para la Tranilcipromina se usó de 0.5 mg/Kg. de peso una hora antes del estímulo eléctrico.

Las dosis de Metoína que se usaron fueron aquellas que no protegieron a las ratas en más del 50%, (10, 7, 8, 5 y 1.2 mg./Kg.).

La administración de Metoína se realizó 40 minutos antes del estímulo eléctrico, en aquellos animales que previamente habían recibido el respectivo I.M.A.O. Se estudiaron los resultados que dicha asociación provocaba en las ratas.

8. *Procedimientos Estadísticos*

El trabajo experimental, fue planeado tomando como base el método estadístico, descrito por Litchfield y Wilcoxon. (24) de acuerdo con el cual se determinaron la DP_{50} , de cada fármaco frente al electroshock supramáximo, la DL_{50} , el Índice Terapéutico que se obtiene de la rela-

ción DL_{50}/DP_{50} , y, finalmente la potencia relativa de cada uno de los fármacos tomado como unidad, al fenobarbital.

Para valorar la sinergia de la asociación de los anticonvulsivantes clásicos con los IMAO, se usaron cuadros con barras comparativas, y determinamos su DP_{50} con el mismo método estadístico. Hemos preferido determinar el Índice Terapéutico en vez del Índice Protector Experimental de Goodman, por considerar que éste utiliza para su determinación la DT_{50} (Dosis Tóxica 50%), de difícil y subjetiva evaluación, mientras que la determinación de la DL_{50} (uno de los factores del Índice Terapéutico) tiene mayor significado cuantitativo.

RESULTADOS

El umbral para el electroshock supramáximo, se obtuvo por medio de tanteos, modificando tanto la intensidad del estímulo eléctrico como el tiempo de su aplicación. Se encontró que un shock eléctrico con corriente farádica correspondiente a 13 voltios y 1.5 mAmp. (2 cm. de separación entre el inductor e inducido por un tiempo de 2 segundos de duración), provocaba la extensión tónica del tren posterior en el 100% de las ratas, lo que es característico en este tipo de convulsión experimental; la cual siguió las siguientes fases:

Flexión tónica extrema en los miembros posteriores del animal con ligero temblor superimpuesto, de duración aproximada de 3 seg.; que en la gráfica corresponde a un descenso de la línea basal.

Extensión tónica extrema en los miembros posteriores del animal con temblor o sin él, seguida de relajación abrupta, y con una duración promedio aproximada de 12 segundos; en la gráfica corresponde a un ascenso rápido y sostenido por encima de la línea basal.

Clonus consiste en varias extensiones y relajaciones intermitentes. En la gráfica se observaron ascensos y descensos rápidos.

Depresión postelectroshock, caracterizada por una inhabilidad para presentar reacciones de posición y contactos; con un promedio de duración aproximado de dos minutos.

Todas estas secuencias, fueron observadas visualmente al igual que en el método original, y, además, fueron perennizadas según la modificación que realizamos para el presente trabajo, tal como se muestra en la figura N° 1.

Con estímulos subliminales; se obtienen movimientos clónicos (pataleo), sin el componente extensor-tónico, tal como se observa en la figura Nº 2 a-b-c.

Los valores en unidades eléctricas fueron determinados en el departamento de Electrónica del Politécnico Nacional "José Pardo", Lima.

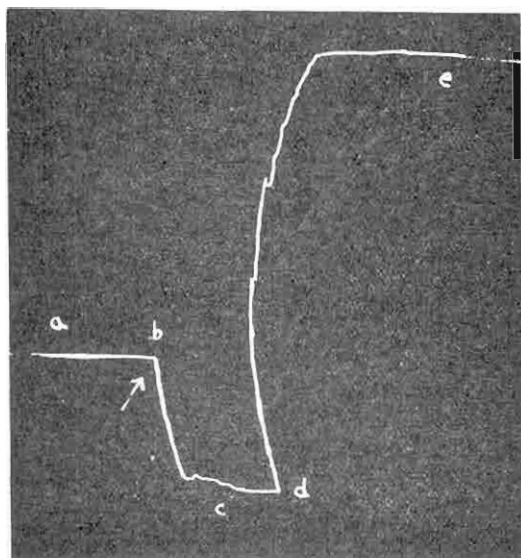


Fig. 1.— Registro que corresponde a la respuesta del umbral para el electroshock supramáximo en Ratas con corriente Farádica: 13 volt. y 1.5 mAmp. a) Línea Basal. b) Aplicación de corriente Farádica. c) Flexión de las patas posteriores. d) Inicio de la Extensión. e) EXTENSION - TONICA de las patas posteriores.

Resultados obtenidos con los Anticonvulsivantes Clásicos:

Fenobarbital. Con este fármaco obtuvimos una buena protección de los animales tratados frente al ESM así: Con 40 mg./Kg. obtuvimos 100% de protección; y con 5 mg./Kg. no llegamos a obtener protección para ningún animal. La sedación que presentaban las ratas era proporcional al aumento progresivo de las dosis.

La alteración que éste fármaco determina en las gráficas fue similar a aquellas obtenidas con estímulos subliminales; las gráficas mostraron flexión intermitente o clonus del tren posterior de la rata. Toda a-

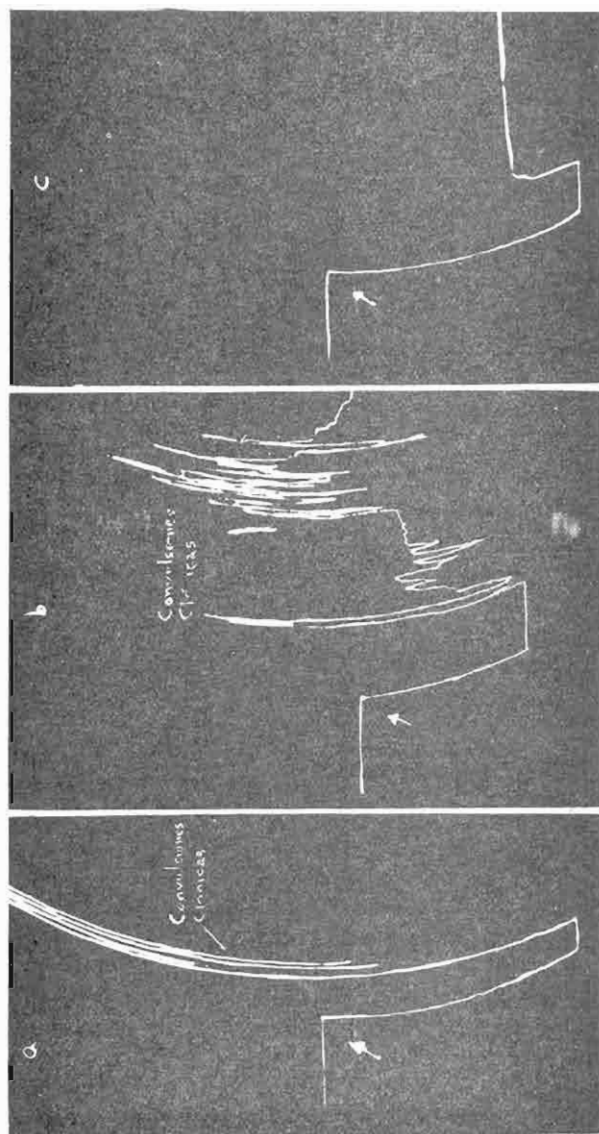


Fig. 2.— Registros que corresponden a respuestas con estímulos Subliminales, se nota la ausencia del componente EXTENSOR- TONICO de las patas posteriores. a) A la flexión máxima siguen movimientos clónicos - Pataleo- (10.5 volt. y 1.25 mAmp. b) Movimientos Clónicos de las patas posteriores. (8 volt. y 1 mAmp.). c) Flexión máxima con una corriente de menor intensidad y voltaje (4.5 volt. y 0.5 mAmp.).

bolición del componente tónico-extensor fue considerado como protección contra la convulsión experimental y en el registro se corresponde con la ausencia de elevación sostenida de la gráfica por encima de su línea basal.

Progresivos cambios en el carácter de las crisis (convulsiones) con dosis crecientes de fenobarbital se encuentran en la figura N° 3.

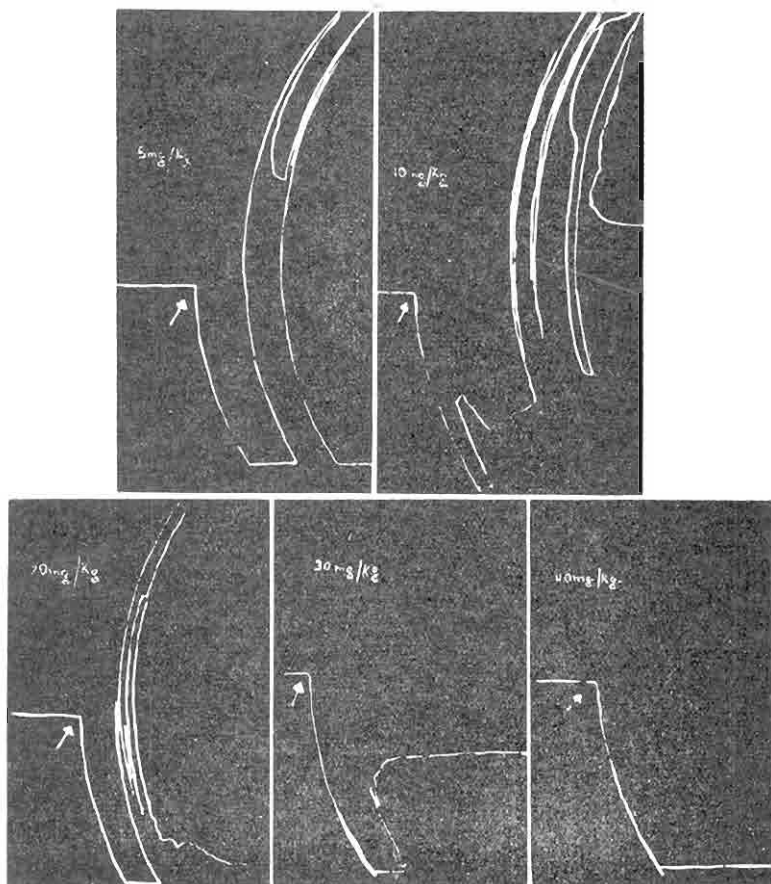


Fig. 3.— Cambios progresivos en el carácter de las convulsiones con dosis crecientes de FENOBARBITAL, administrado 30 minutos antes de la aplicación del E.S.M. en ratas. Se observan variaciones en el periodo de latencia, intensidad y duración de los movimientos clónicos, así como ausencia del componente EXTENSOR-TÓNICO.

Además, los animales que convulsionaron lo hicieron de una manera menos intensa y duradera, y ningún animal llegó a morir después del E.S.M. cuando previamente habían recibido Fenobarbital.

La DP_{50} para el Fenobarbital fue de 22 mg/Kg., con límites de confianza (19/20 probabilidades) de 13.14 a 35.86 mg/Kg., resultados que son muy semejantes a los obtenidos por Graham Chem (13).

El $(\chi)^2$ encontrado fue de 1.24; y el $(\chi)^2$ encontrado en las tablas fue de 7.82.

El $(\chi)^2$ de la tabla es mucho mayor que el $(\chi)^2$ encontrado con los datos del Fenobarbital; en consecuencia, nuestros resultados tienen una homogeneidad altamente significativa.

Los resultados para la DL_{50} del Fenobarbital se encuentran resumidos en el cuadro N° 1.

Metoina En los animales tratados con éste fármaco, obtuvimos una excelente protección para la convulsión experimental.

Los animales mostraron mayor sedación que con el Fenobarbital, pero aun con la mayor dosis usada el déficit neurológico (sedación, ataxia e incoordinación) no fue absoluta.

Las alteraciones que éste fármaco determinó en las gráficas registradas por los animales consistieron en un mayor porcentaje de flexión máxima sin acompañarse de extensión tónica; los animales que presentaron extensiones tónicas lo hicieron con un período de latencia mayor que en las pruebas para buscar el umbral al E.S.M., también la duración fue más breve.

La DP_{50} fue de 7.2 mg/Kg. con límites de confianza (19/20, probabilidades) de 2.88 a 18 mg/Kg.

El $(\chi)^2$ de la tabla 11.1 es mucho mayor que el $(\chi)^2$ encontrado con los datos de la Metoina 7.22; en consecuencia, nuestros resultados tienen una homogeneidad altamente significativa.

Los resultados para DL_{50} de la Metoina se encuentran resumidos en el cuadro N° 1.

Resultados obtenidos con los Inhibidores de la Monoaminoxidasa (IMAO)

Antetamina. Con los animales tratados con este fármaco al aplicarles el E.S.M., obtuvimos una buena protección para la convulsión experimental. A diferencia de la sedación que mostraron los animales tratados con los anticonvulsivantes clásicos, los que recibieron Anfetamina se mostraron excitados y con hiperreflexia; pero, aún con la mayor dosis aplicada el déficit neurológico no fue absoluto en ningún mo-

mento, y con la menor dosis empleada no se observaron signos de excitación.

Las modificaciones que la Anfetamina determinó en las gráficas se caracterizaron por presentar un gran porcentaje de descensos a partir de la línea basal, (flexiones).

Los animales que presentaron respuestas de extensión tónica, lo hicieron después de un período prolongado de latencia y su duración e intensidad estuvieron grandemente disminuidas al compararse con las gráficas obtenidas en la determinación del umbral.

En algunas ratas el período post-electroshock estuvo más dilatado y dos de ellas murieron después de la descarga eléctrica.

La DP_{50} fue de 10.5 mg/Kg., con límites de confianza (19/20 probabilidades) de 2.50 a 41.89 mg/Kg.

El $(\chi)^2$ de las tablas —7.82— es mucho mayor que el $(\chi)^2$ encontrado para Anfetamina —1.45%, en consecuencia, nuestros datos tienen una homogeneidad altamente significativa.

Los datos referentes a la DL_{50} (toxicidad aguda), de la Anfetamina se encuentran resumidos en el cuadro N° 1.

Nialamida Los animales que previamente recibieron este IMAO, mostraron una excelente protección para el E.S.M. Solamente se observó excitación en el grupo de animales que recibió la mayor dosis usada en el presente trabajo; con las otras dosis que fueron menores, las ratas se encontraban tranquilas y dóciles.

Con todas las dosis usadas el estado neurológico de los animales se mantuvo dentro de los límites normales.

Las modificaciones que la Nialamida determinó en las gráficas se caracterizaban por presentar un gran porcentaje de abolición del componente tónico-extensor y aún del componente flexor, sobre todo cuando se usaban las dosis elevadas.

Las dosis mayores usadas así como las menores, mostraron casi el mismo carácter de protección y efectividad.

La DP_{50} fue de 52 mg/Kg., con límites de confianza (19/20 probabilidades) de 18.57 a 145.60 mg/Kg.

El $(\chi)^2$ de las tablas —11.1— es mucho mayor que el $(\chi)^2$ encontrado para la Nialamida —6.05—, en consecuencia, nuestros datos tuvieron una homogeneidad altamente significativa.

Los datos referentes a la DL_{50} (toxicidad aguda), se encuentran resumidos en el cuadro N° 1.

Los resultados obtenidos, mediante nuestros cálculos estadísticos, para éste fármaco son muy semejantes a los proporcionados por la li-

temperatura básica de los laboratorios Pfizer; usando la misma vía de administración y los mismos animales.

Tranilcipromina. Con los animales tratados con éste fármaco, al aplicarles el estímulo eléctrico del E.S.M., no hubo protección en ningún animal, con ninguna de las dosis usadas, las cuales fluctuaron de 0.10 a 100 mg/Kg.

Casi inmediatamente después de la administración de este fármaco se observaron en los animales, piloerección, hiperreflexia, excitación psicomotriz y abundante sialorrea; sobre todo con las dosis más altas.

El carácter de las crisis (convulsiones), con dosis crecientes fueron semejantes a las observadas con el umbral para el electroshock máximo; tal como se ilustra en la figura N° 1.

En las pruebas de toxicidad aguda encontramos que la DL_{50} para la Tranilcipromina fue de 177 mg/Kg. con límites de confianza (19/20 probabilidades) de 167.80 a 187.62 mg/Kg., cuadro N° 1:

Con todas las dosis empleadas la muerte de los animales que así lo hicieron estuvo precedida por: piloerección, sialorrea, hiperreflexia, excitación psicomotriz, y convulsiones tónico-clónicas generalizadas.

Resultados Obtenidos al Asociar Fenobarbital con los Inhibidores de la Monoaminooxidasa (I.M.A.O.).

Fenobarbital más Anfetamina. En el grupo de animales tratados con Anfetamina y Fenobarbital, 4 horas y 30 minutos respectivamente, antes del ESM; se observó un aumento considerable en el porcentaje de protección para las convulsiones experimentales, disminuyó el tiempo promedio de convulsión en los animales que así lo hicieron y el período de latencia para la presentación de éstas fue más prolongado. Estos resultados se ilustran en el cuadro N° 2 y en la gráfica N° 1.

Fenobarbital más Nialamida. En el grupo de ratas tratadas con Nialamida y Fenobarbital, 8 horas y 30 minutos respectivamente antes del E.S.M., se observaron los mejores efectos anticonvulsivantes aumentando grandemente los porcentajes de protección para el E.S.M.

En los animales que llegaron a convulsionar, se observó un aumento considerable en el período de latencia para la presentación de la extensión tónica del tren posterior y el período promedio de convulsiones disminuyó. La DP_{50} de Fenobarbital de 22 mg/Kg., disminuyó hasta 3.8 mg./Kg. cuando se asociaba con la Nialamida (DP_{10}).

Los resultados de ésta asociación se ilustran en el cuadro N° 2 y en la gráfica N° 2 (Fig. N° 4).

Fenobarbital mas Tranilcipromina En los animales tratados con Tranilcipromina y Fenobarbital, 60 minutos y 30 minutos antes del E. S. M. respectivamente, no observamos modificaciones en las respuestas ni en las gráficas, las cuales eran semejantes a las obtenidas con el umbral. Es decir, esta asociación no mejoró el porcentaje de protección, periodo de latencia ni el tiempo de duración de las convulsiones.

Los resultados se ilustran en el cuadro N° 2.

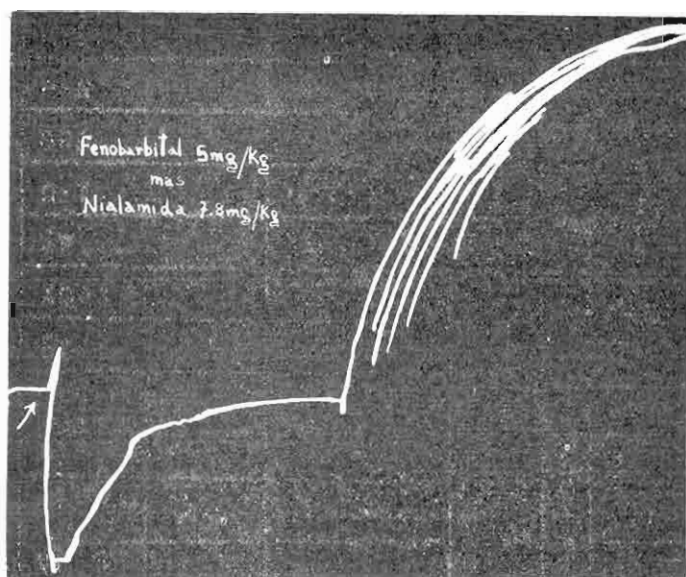


Fig. 4.— Respuesta de la asociación FENOBARBITAL-NIALAMIDA frente al E S M. en ratas.

Resultados Obtenidos al Asociar Metoína con los Inhibidores de la Monoaminoxidasa

Metoína más Anfetamina. Con los animales tratados con Anfetamina y Metoína. 4 horas y 40 minutos respectivamente antes de la aplicación del E.S.M. obtuvimos resultados favorables en el sentido de que hubo un mayor porcentaje de protección en los animales para la convulsión experimental; el periodo de latencia para la presentación de las convulsiones en los animales que así lo hicieron, fue más dilatado y el tiempo

promedio de cada convulsión más corto. Los resultados se ilustran en el cuadro N° 2 y en la gráfica N° 3.

Metoína más Nialamida. Los animales que previamente recibieron Nialamida y Metoína, 8 horas y 40 minutos respectivamente antes del E.S.M., mostraron mayor resistencia a la convulsión experimental que con los otros inhibidores de la monoaminoxidasa. Los que llegaron a convulsionar, mostraron un período de latencia más prolongado, y el tiempo promedio de las mismas fue más breve. Los resultados se ilustran en el cuadro N° 2 y en la gráfica N° 4.

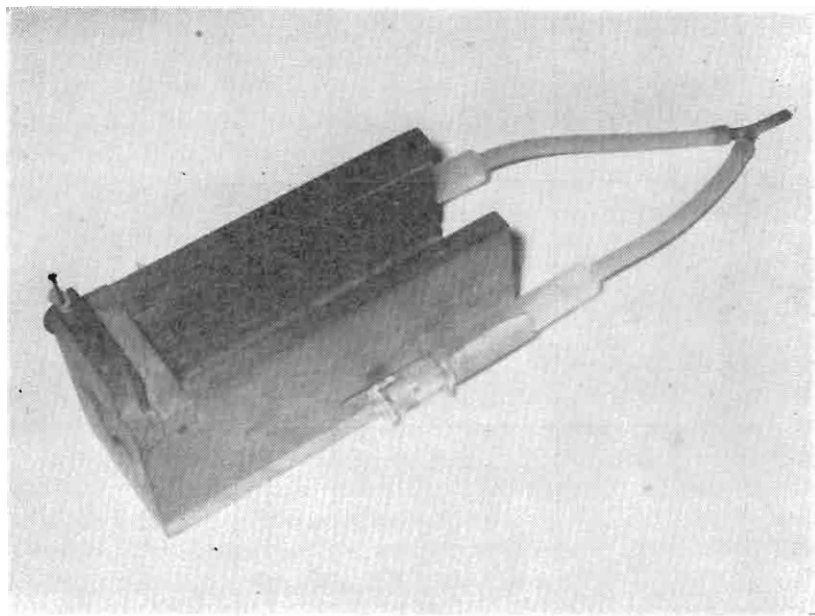


Fig. 5.— Caja de sujeción y registro para rata (original). Diseñada por el Dr. Aurelio Ortiz. Construida por el Sr. Carlos Dóvila.

Metoína mas Tranilcipromina. Con los animales que previamente recibieron Tranilcipromina y Metoína, 60 minutos y 40 minutos respectivamente, antes del E.S.M.; no observamos modificaciones en las respuestas ni en las gráficas, las cuales eran semejantes a las obtenidas con el umbral. Es decir, que esta asociación no mejoró el porcentaje de protección, período de latencia, ni el tiempo de duración de las convulsiones. Los resultados se ilustran en el cuadro N° 2.

Cuadro Nº 1

Farmaco	DP ₅₀	DL ₅₀	I. T. ——— DP ₅₀	DL ₅₀	Potencia Relativa al Fenobarbital
Fenobarbital	22 mg/Kg (13.14 a 35.86)	230 mg/Kg (148 mg/Kg a 356)	10.45	10.45	1
Metoína	7.2 mg/Kg (2.88 a 18 mg)	490 mg/Kg (418 a 573)	68.00	68.00	3.05 (1.08 a 8.6)
Anfetamina	10.5 mg/Kg (2.50 a 41.89)	95 mg/Kg (62.34 a 130.15)	9.04	9.04	2.09 (0.89 a 5.89)
Nialamida	52 mg/Kg (17.8 a 150.8)	740 mg/Kg (655.14 a 834.72)	14.23	14.23	2.09 (0.75 a 7.38)
Tranilcipromina	—————	177 mg/Kg (167.80 a 187.62)	—————	—————	—————

* Índice terapéutico = DL_{50} / DP_{50}
Entre paréntesis se encuentran los límites de confianza (19/20) probabilidad)

Ensayo de Potencia Relativa: En este tipo de ensayo tomamos como unidad al más clásico y conocido de los anticonvulsivantes, el Fenobarbital.

Usando el método estadístico base del presente trabajo, encontramos los siguientes valores:

$$\text{Metoína, Potencia relativa} = PR = \frac{^{11}50' (\text{Fenobarbital})}{^{11}50'' (\text{Metoína})} = 22/7.2 = 3.05$$

Factor de Potencia Relativa: fPR = 2.82 (encontrado en las tablas). La Potencia Relativa de 3.05, es mayor que su factor de 2.82, por consiguiente los dos fármacos (Fenobarbital y Metoína) difieren en potencia anticonvulsivante significativamente.

Los límites de confianza para PR, (19/20 probabilidades) fueron de 1.08 a 8.6; por consiguiente la Metoína fue significativamente más potente como anticonvulsivante que el Fenobarbital frente al E.S.M. en ratas, con límites de confianza (19/20 probabilidades) de 1.08 a 8.60 veces mayor que el Fenobarbital, cuadro N° 1.

$$\text{Anfetamina, Potencia Relativa} = PR = \frac{^{11}50' (\text{Fenobarbital})}{^{11}50'' (\text{Anfetamina})} = 22/10.5 = 2.09$$

Factor de Potencia Relativa: fPR = 2.34 (encontrado en las tablas). Los límites de confianza para PR, (19/20 probabilidades) fueron de 0.89 a 5.89.

La Potencia Relativa de 2.09 fue menor que su factor de 2.34, por consiguiente, la Anfetamina no fue significativamente más potente que el Fenobarbital como anticonvulsivante en ratas frente al E. S. M., los límites de seguridad (19, 20 probabilidades) están entre: 0.89 a 5.89 veces la potencia del Fenobarbital, cuadro N° 1.

$$\text{Nialamida, Potencia Relativa} = PR = \frac{^{11}50' (\text{Nialamida})}{DP_{30}'' (\text{Fenobarbital})} = 52/22 = 2.36$$

Factor de Potencia Relativa: fPR = 3.13 (encontrado en las tablas). Límites de confianza para PR, (19/20 probabilidades) fueron de 0.75 a 7.38. La potencia relativa de 2.36, no excede a su factor de 3.13; por consiguiente la Nialamida no fue significativamente más potente que el Fenobarbital como anticonvulsivante en ratas frente al E.S.M. Los límites de seguridad (19/20 probabilidades), son de 0.75 a 7.38, veces la potencia del Fenobarbital, cuadro N° 1. La asociación Nialamida

con Fenobarbital dio el más elevado índice de Protección Relativa al Fenobarbital, cuadro N° 2.

Cuadro N° 2

PROTECCION DE LAS CONVULSIONES PROVOCADAS POR EL ELECTROSHOCK SUPRAMAXIMO DE LAS ASOCIACIONES FENOBARBITAL Y METOINA-INHIBIDORES DE LA MONOAMINOXIDASA

FARMACO	DP ₅₀ (*)	PROTECCION RELATIVA
Fenobarbital	22 (13.14-35.86)	1
Fenobarbital-Anfetamina	3.9 (1.8 - 6.0)	5.6 (2.3 - 15.4)
Fenobarbital-Nialamida	3.8 (1.0 - 14.4)	5.8 (1.5 - 23.2)
Fenobarbital-Tranilcipromina	30. (10.0-90.0)	1.3 (0.42-4.0)
Metoina	7.2 (2.88-18.0)	1
Metoina-Anfetamina	4. (2.3 - 7.0)	1.8 (0.62 - 5.22)
Metoina-Nialamida	1.5 (0.5 - 4.5)	4.8 (1.2 - 19.0)
Metoina-Tranilcipromina	8. (2.1 - 30.4)	1.1 (0.27 - 4.4)

* DP₅₀: Dosis Protectora 50%, en mg/Kg.
Entre paréntesis se encuentran los límites de confianza 19/20 probabilidades.

Resultados al Determinar el Índice Terapéutico. A diferencia de la búsqueda del Índice de Seguridad, DT₅₀/DP₅₀ (Dosis Tóxica 50% Dosis Protectora 50%) llamado también Índice Protector Experimental de Goodman, nosotros buscamos el Índice Terapéutico, DL₅₀/DP₅₀; o sea la relación entre la dosis letal 50% y la dosis protectora (anticonvulsivante) 50%; y, que según Gaddum (7) debe ser por lo menos igual a 10, para que pueda utilizarse en la práctica sin peligro.

Los resultados fueron obtenidos de las respuestas de los animales frente al E.S.M. y de las pruebas de toxicidad aguda (DL₅₀), con cada uno de los fármacos usados y se muestran en el cuadro N° 1.

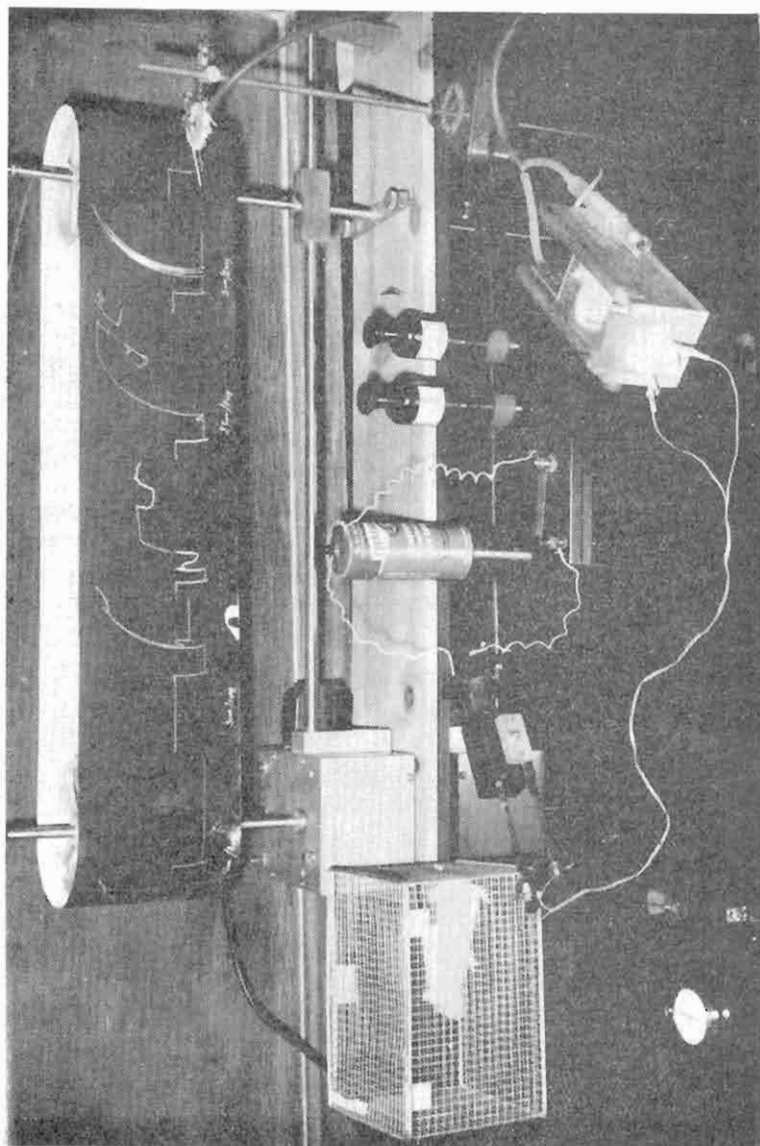


Fig. 6.—Equipo para provocar y registrar convulsión experimental en ratos. Método del electroshock máximo Registrado (original)

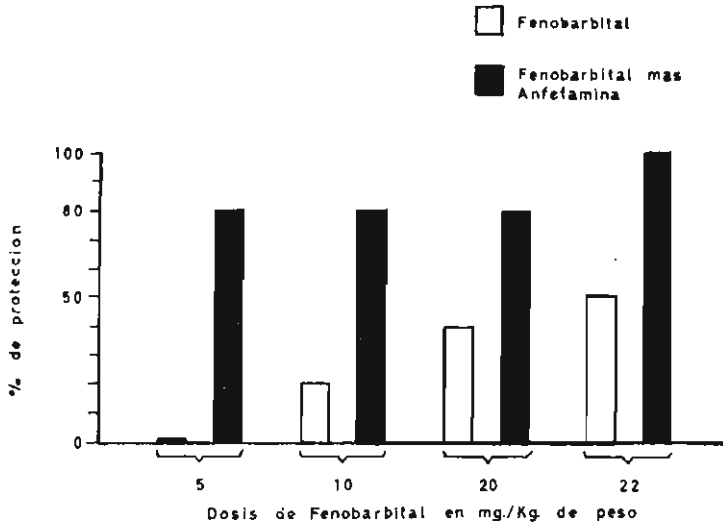


GRAFICO N° 1 .- Porcentaje de proteccion frente a las convulsiones provocadas por el ESM al asociar dosis crecientes de Fenobarbital (inferiores a la DP_{50}) con una dosis constante de Anfetamina (DP_{16})

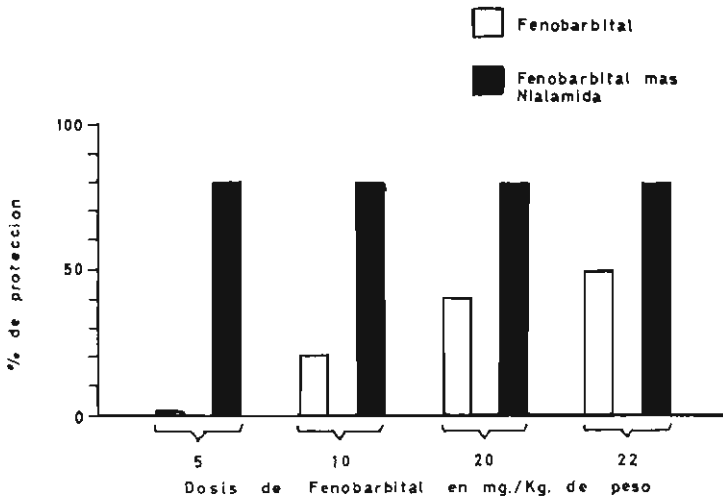


GRAFICO N° 2 .- Porcentaje de proteccion frente a las convulsiones provocadas por el ESM al asociar dosis crecientes de Fenobarbital (inferiores a la DP_{50}) con una dosis constante de Nialamida (DP_{16})

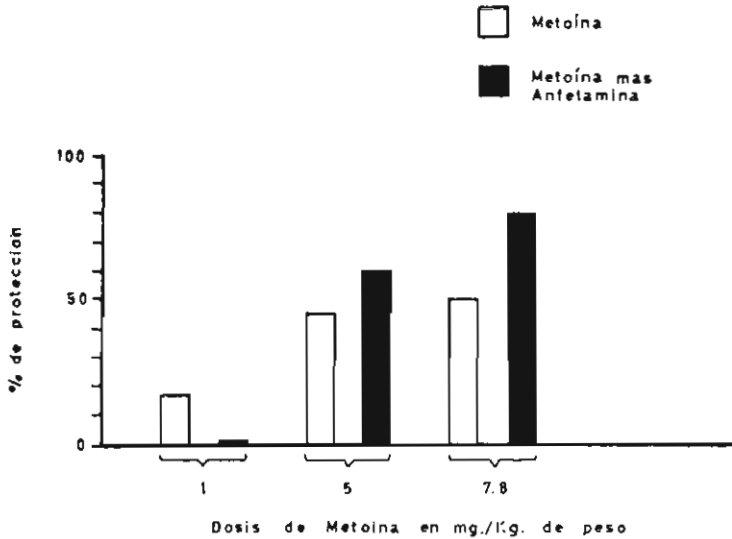


GRAFICO N° 3.- Porcentaje de protección frente a las convulsiones provocados por el ESM al asociar dosis crecientes de Metoína (inferiores a la DP_{50}) con una dosis constante de Antetamina (DP_{16})

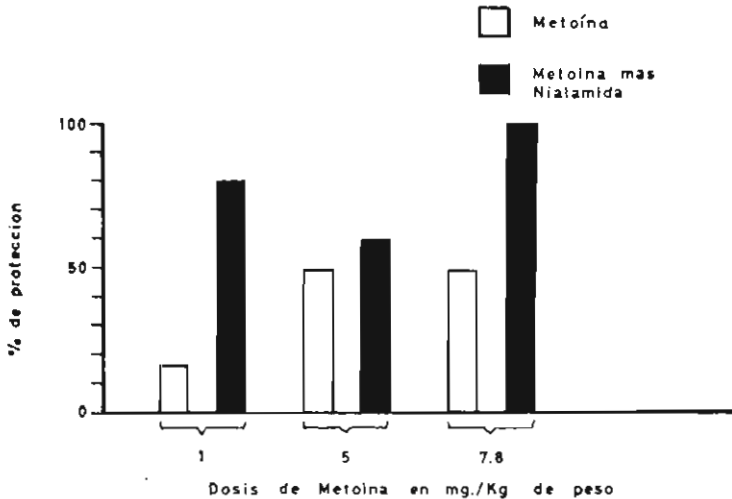


GRAFICO N° 4.- Porcentaje de protección frente a las convulsiones provocados por el ESM al asociar dosis crecientes de Metoína (inferiores a la DP_{50}) con una dosis constante de Nialamida (DP_{16})

DISCUSION

En la evaluación experimental de los fármacos anticonvulsivantes se han adoptado una serie de procedimientos físicos y químicos.

La técnica que hasta la fecha ha mostrado mejor correlación con la eficacia antiepiléptica está basada en la habilidad de ciertos fármacos para alterar el carácter de la mayor crisis producida por una estimulación supramaximal del electroshock.

Durante una crisis de extensión tónica todos los circuitos neuronales capaces de contribuir en la descarga, están máximamente activos y la crisis no puede ser por ésto modificada una vez que ha comenzado (12).

Los datos presentados para el Fenobarbital son el resultado de experimentos realizados en el tiempo de su mayor actividad anticonvulsivante (8-27); dicho fármaco demostró buena acción protectora frente al electroshock máximo; y los parámetros obtenidos se semejan a los conseguidos por otros autores (13-25).

Se sabe que la capacidad anticonvulsiva del fenobarbital se relaciona con la presencia de un grupo fenilo. en su fórmula química, el que le confiere propiedades de depresor selectivo de la corteza cerebral motora, siendo su efecto neurodepresor general menos marcado que el de los otros barbitúricos.

La Metoína, ha mostrado en nuestras experiencias tener la mejor acción anticonvulsivante y a diferencia de Goodman, quien le dá un índice protector de 11.1 frente al electroshock máximo; nosotros hemos encontrado el más alto índice terapéutico, equivalente a 68. En lo que respecta a potencia relativa con el fenobarbital encontramos que la metoína es 3.11, veces más potente como anticonvulsivante que el fenobarbital.

Este fármaco como es sabido pertenece al grupo de las hidantoínas y aunque se ha publicado que ellas aumentan el nivel de serotonina cerebral (4), este hecho no es aceptado por todos los autores. La Metoína produce abolición del componente extensor tónico producido en la rata por el E. S. M., este efecto positivo y el índice terapéutico experimental elevado, lo sindicam como el fármaco de mayor actividad anticonvulsivante y de menor letalidad.

La *Anfetamina*, produce efectos de despertar semejantes a los vistos con la estimulación del sistema reticular activador y se le ha usado durante cierto tiempo para prevenir el sueño. Logothetics, observando la activación del sueño en grupo de pacientes convulsivos, halló

que el 65% de los pacientes experimentaban un porcentaje de 50% o más de disminución en las convulsiones cuando recibían Anfetamina.

Gellhorn, Franken y Gunn; han mostrado recientemente que la estimulación reticular mesencefálica intermitente (que causa el despertar cortical y el bloqueo alfa) puede inhibir al foco epileptogénico agudo o crónico y prevenir de ésta manera la difusión de la descarga convulsivante y la embestida de la misma (16).

Los trabajos Blaschko sindician a este fármaco como un inhibidor de la MAO, y dicho autor sostiene que inhibe a esta enzima (monoamino oxidasa) por un antagonismo de competencia.

De otro lado sabido es que las catecolaminas constituyen el substrato para la monoaminoxidasa (3). Según los trabajos realizados por Hager y Weiner, 1959; se establece que la monoaminoxidasa actúa sobre aminas primarias y secundarias de estructura general: $R-CH_2NH_2$, y $R-CH_2NH_2-R_1$, especialmente cuando el radical R_1 es un CH_3 . Las aminas sustituidas en alfa y de fórmula general: $R-CH(CH_3)-NH-R_1$, como es el caso de la Anfetamina no son oxidadas por la monoaminoxidasa y, al contrario, la antagonizan por competencia (35).

Ciertas experiencias de C.A. Condouris, sobre bloque de transmisión nerviosa por los I.M.A.O., dan alguna base para pensar que la monoaminoxidasa es necesaria para la buena función de los nervios periféricos y su inhibición podría anular la descarga nerviosa convulsiva (5). Sin embargo, estudios recientes tienden a demostrar que la elevación de catecolaminas cerebrales se debe a un bloqueo de la retoma de estas aminas por los sitios de depósito mas que a una inhibición de la MAO.

Goldstein y Muñoz (26), estudiaron cuantitativamente el efecto de la DL-anfetamina en conejos con electrodos crónicamente implantados en la tabla externa de la bóveda craneana y confirmaron que este fármaco ejerce un efecto estimulante, es decir, ocasiona una disminución de la electrogénesis registrada en el integrador de Drohocki.

En nuestras experiencias encontramos que este fármaco tiene un buen efecto anticonvulsionante y, experimentalmente, mayor potencia que el Fenobarbital, pero, al determinar su potencia relativa esta no fue estadísticamente significativa; y su Índice Terapéutico fue uno de los más bajos, y no superaba la cifra de "10", para tener significancia según los cánones de Gaddum (7).

La *Nialamida*, timerético hidrazídico potente inhibidor de la monoaminoxidasa, es el que entre los tres I.M.A.O. usados dió la mayor protección a las ratas trabajadas, mostrando además el mayor Índice Te-

rapéutico. Sin embargo, su potencia relativa al Fenobarbital, no fue significativamente mayor.

La *Tranilcipromina*, es un timerético no hidrazídico, inhibidor de la monoaminoxidasa potente, rápido y fugaz (23) (varias veces más potente que la iproniacida).

La máxima inhibición de la MAO la produce a la hora de ser administrada y dura por espacio de 15 horas.

A pesar de que teóricamente debería provocar la mayor protección frente al E.S.M., si es que este efecto anticonvulsivante, estuviera asociado a la elevación de las catecolaminas cerebrales, no demostró acción anticonvulsivante experimental, ni aún con dosis cercanas a las letales (100 mg/Kg.).

El descubrimiento de los I.M.A.O. (37) amplió el horizonte de los estudios farmacológicos e inició el estudio de sus cualidades en diferentes aspectos.

La investigación anticonvulsivante no se hizo esperar y se efectuaron una serie de trabajos: Prockop et al. (29) describen que la acción anticonvulsivante que ejercen los I.M.A.O., es opuesta a la disminución del umbral convulsivante que produce la reserpina, que como es sabido disminuye el nivel de catecolaminas y 5-HT cerebrales.

Estos autores concluyen que los I.M.A.O., tienen un pronunciado efecto anticonvulsivante y que este efecto está estrechamente asociado con la elevación de 5-HT y norepinefrina cerebrales.

Laroche et al. (22), han encontrado que el momento de la máxima protección anticonvulsiva para fármacos tales como la Iproniácida, Nialamida, y Tranilcipromina sucede cuando la inhibición de la monoaminoxidasa y los niveles de serotonina y catecolaminas cerebrales, han llegado a su máximo.

De lo antedicho se desprende, pues, que existen una serie de trabajos que apoyan firmemente la hipótesis de que la liberación de catecolaminas cerebrales es la responsable de la acción anticonvulsivante de los inhibidores de la monoaminoxidasa. Sin embargo, serios y cuidadosos trabajos realizados por Pan S. et al. (28) muestran que: Dosis de Nialamida, las cuales duplicaron los niveles de serotonina cerebral, no incrementaban el umbral convulsivante en ratones; que la concentración de serotonina cerebral no fue más incrementada por dosis excesivas de Nialamida (100 mg/Kg.), mientras el umbral convulsivante continuaba elevándose cuando las dosis eran incrementadas, y que,

cambios en el umbral convulsivante se presentaron sin correspondencia con los cambios de norepinefrina cerebral.

Estos resultados indican, que los cambios en el umbral convulsivante obtenidos por la Nialamida, son debidos a un mecanismo de acción diferente a la elevación de catecolaminas cerebrales.

Otros investigadores tales como Chow y Hendley, 1959 (36) encontraron que la Iproniacida, produjo una acción anticonvulsivante débil y concluyeron que la actividad anticonvulsiva, no puede ser el resultado directo de la actividad inhibitoria de la monoaminoxidasa, o sea la elevación de las catecolaminas; cuando se administra este tipo de fármacos.

Nosotros, usando tres I.M.A.O., hemos obtenido con dos de ellos protección para el E.S.M., pero con la Tranilcipromina, que es varias veces más potente que la Iproniacida como inhibidor de la monoaminoxidasa, no encontramos protección alguna, ni aún con dosis cercanas a las letales.

Estos hallazgos concuerdan con los de Pan S. et al. y de Chow y Hendley, en el sentido de que la elevación de las catecolaminas cerebrales no es la responsable de las acciones anticonvulsivantes de este grupo de fármacos inibidores de la monoaminoxidasa ya que a la Tranilcipromina le correspondería mayor potencia anticonvulsivante, de la cual sin embargo carece.

Los inhibidores de la monoaminoxidasa que mostraron tener acciones anticonvulsivantes, lo hicieron con dosis que eran ligeramente estimulantes a diferencia de los barbitúricos e hidantoínas que ejercieron sus efectos protectores frente al E.S.M. con dosis que mostraban efectos depresores sobre el sistema nervioso central.

Al comentar el resultado de nuestras asociaciones de fármacos, usadas en el presente trabajo, tenemos que referirnos a las investigaciones de Pan S. et al. (28) quienes encontraron que un derivado hidantónico, la difenilhidantoína, en dosis hasta 9 veces mayores que las dosis anticonvulsivantes standard, no alteró significativamente el contenido de 5-HT y norepinefrina en el cerebro de ratones y que la nialamida potenció el efecto anticonvulsivante de la difenilhidantoína frente al electroshock supramáximo. Yen H.C.Y. et. al. en 1962 (36) asociando un inhibidor de la monoaminoxidasa (Iproniacida), con otros anticonvulsivantes clásicos, encontraron que se potenciaba y prolongaba su efectos anticonvulsivantes, siendo menor esta potenciación cuando se usaba la difenilhidantoína. El resultado positivo de estas asociaciones en la actividad anticonvulsiva, las explica el mencionado autor,

como debidas a la facilitación de absorción, o al hecho que los I.M.A.O. puedan inhibir, o disminuir la proporción del metabolismo a nivel hepático de los anticonvulsivantes clásicos. Así, la actividad anticonvulsivante sería prolongada y potenciada.

Nosotros hemos encontrado que este sinergismo sólo existió con aquellos inhibidores de la monoaminoxidasa que mostraron protección frente al E.S.M., cuando se les administró solos (Anfetamina y Nialamida).

La tranilcipromina, al ser administrada sola no protegió a los animales de la convulsión experimental y tampoco mejoró los porcentajes de protección del Fenobarbital y Metoína cuando se asoció con estos fármacos. La asociación que mejor resultados nos dió, por elevar notablemente el porcentaje de protección en las ratas frente al electroshock máximo, fue la asociación Fenobarbital-Nialamida.

El mecanismo de estas asociaciones puede ser, aparte de la inhibición de la monoaminoxidasa, debido a la inhibición de la metabolización enzimática de los barbitúricos e hidantoínas en las mitocondrias hepáticas, según lo sostienen Laroche y Brodie (22) y Yen H.C.Y. et al. (36).

De todas estas consideraciones se desprende, que se justificaría iniciar en la clínica, con el cuidado y limitaciones que requiere la investigación en seres humanos, el tratamiento de algunos desórdenes convulsivos, con las I.M.A.O. y sus asociaciones con los anticonvulsivantes clásicos.

CONCLUSIONES

Del presente estudio experimental sobre la actividad anticonvulsivante del Fenobarbital, Metoína y tres inhibidores de la monoaminoxidasa (Anfetamina, Nialamida y Tranilcipromina) y su sinergismo, podemos establecer las siguientes conclusiones:

1. Se presenta un método fácil para la evaluación de fármacos anticonvulsivantes, que tiene la ventaja de graficar las respuestas, pennizando los resultados del Electroshock máximo.

2. Se ratifica la acción anticonvulsivante del Fenobarbital y la Metoína frente al E.S.M., siendo mas potente esta última como anticonvulsivante.

3. La Anfetamina y la Nialamida poseen buen efecto protector contra las convulsiones experimentales del electroshock supramáximo.

4. La Tranilcipromina, no protege a las ratas contra las convulsiones provocadas por el electroshock supramáximo.

5. No todos los inhibidores de la monoaminoxidasa son anticonvulsivantes.

6. Los antiaminoxidásicos de síntesis: Anfetamina y Nialamida, al asociarlos con el Fenobarbital y Metoína, mejoran los porcentajes de protección frente al electroshock máximo en ratas.

7. La Tranilcipromina asociada al Fenobarbital y Metoína, no produjo aumento significativo en los porcentajes de protección frente al E.S.M.

8. Parece ser que el mecanismo de acción anticonvulsivante de los inhibidores de la monoaminoxidasa, no está relacionada con el aumento de los niveles de serotonina y catecolaminas cerebrales, ya que la Tranilcipromina el inhibidor de la monoaminoxidasa que provoca mayores niveles cerebrales de éstas aminas, no tiene efecto protector frente al electroshock máximo en ratas.

9. La asociación Nialamida Fenobarbital, frente al electroshock máximo en ratas, fue la que dió mejores porcentajes de protección.

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, E. G., Markowitz, S. D. and Bonnycastle, D. D.: Brain 5-hydroxytryptamine and anticonvulsant activity. *J. of Pharm.* 136 (2): 179-182; (1962).
2. Bargenton, D. and Rocuet, J.: Etude des propriétés anticonvulsivantes des dérivés de 1-hydroxy-4 glutaconimide effectuée chez la souris à l'aide des différentes méthodes. *Arch. Intern. de Pharm. et de Therapie*; CXXX 1-2; 96; (1961).
3. Blaschko, H.: Aminoxidase and Benzedrine; *Nature London*. 145: 26; (1940).
4. Bonnycastle, D.D., Giarman N. and Olin, J. S.: Anticonvulsant compounds and 5- H.T.P. in rat brain. *Brit. J. Pharm.*: 12 (2): 228; (1957).
5. Condouris, G. H.: Block of nerve conduction by MAO. inhibitors. *Pharmacologist*, 4. (2): 175; 1952.
6. Connel, P. H., D. P. M.: Amphetamine Psychosis. Oxford University Press London; 1958.
7. Gaddum, J. H.: *Pharmacology* 5th. Ed. Oxford University Press London; 1959.
8. Ewart, A., Swinyard, W., Browers, C., and Goodman, L. S.: Comparative assay of antiepileptic drugs in mice and rats; *J. of Pharm. and Expt. Ther.* 106: 319-330; 1952.
9. Flynn, P. and Hirsch, S.: Antidepressants and Electroshock; *Ann. J. Psychiat.* 119 (6): 576-577 (Dec.); 1962.
10. Garattini, S., and Valselli, L.: Serotonin and Electroshock *Proc. Intern. Symp. Psychotropic Drugs, Italy May, 9-11; 1957.*

11. Goodman, L. S., Toman, J. E. P., and Swinyard, E. A.: Anticonvulsant drugs: Mechanisms of action and Methods of Assay: Arch. Intern. et. Pharmacodyn; 78: 144; 1949.
12. Goodman, L. S., Toman, J. E., and Swinyard, E. A.: Propierties of Maximal Seizures and their alteration by anticonvulsant drugs and other agents.: J. Neurophysiology; 9: 231: 1946.
13. Graham, Chen et al.: Evaluation of five methods for testing anticonvulsants activities. Proc. Soc. for Exp. Biology and Medicine; 87: 334-337; 1954.
14. Gray, W. D., Rauh, Ch. D., and Shanahan, R. W.: The Mechanism of the antagonistic action of Reserpine on the anticonvulsant effect of Inhibitors of Carbonic anhidrase. The J. of Ph and Exp. Therapt.; Vol. 139 (3); 1963.
15. Gruber, C.M.: Comparison of the efectiveness of phenobarbital, mephobarbital primidone, diphenylhydantoin, ethotoin, metharbital and methyphenylethylhydatoín, in motor seizures Clinical Pharm. Therpts.; 3 (L): 23: 1962.
16. Gunn, C. C., Gogerty, J. and Stewart, W.: Clinical Pharmacology of anticonvulsant compounds. Clinical Pharm. and Therapt. 2. (6): 733-749; 1961.
17. Gutierrez Noriega: Epilepsia experimental y Drogas colinérgicas; Revista de Neuropsiquiatría. Lima, tomo VIII, 2: 121; 1945.
18. Jenney, E. H. and Pfeiffer.: El Valor Predecible del índice de los Anticonvulsivantes. Ann. New York. Acad. Sci. 679; 1956.
19. Kopin Irwin, J. and Axelrod Julius: The Role of Monoaminoxidase in the Release and Metabolism of Norepinephrine. Ann. of the N.Y. Acad. of Sci.; 107 (3): 848-853, 1963.
20. Krakowski, A. J.: Efficacy and Safety of Nialamide in the treatment of depressive Syndromes. Dis. New. Syst. 22 (3): 167-171; 1961.
21. Krantz, J. C., Jr.: The Pharmacologic Principles of Medical practice. The Williams & Wilkins Company Baltimore 5th. ed.; 1961.
22. Laroche, M. S. and Brodie, B. B.: Lack of Relationship between inhibition of M.A.O., potentiation of hexobarbital Hipnosis. J. Pharm. Exptl. Therap.: 130 (2): 83-98; 1960.
23. Lee, F. S. and Burke, C. W.: Tranlylcipromine. The Lancet, Vol. I: pág. 13-16 London; 1963.
24. Litchfield, J. T. Jr. and Wilcoxon, F. W.: A Simplified method of evaluating Dose-Effect Experiments. The J. of Pharmc. and Exptl. Therapt.: Vol. 96 (2): 99-113; 1949.
25. Mitchell, C. L. and Keasling, H.H.: a comparison of three anticonvulsant testing methods. J. of Pharm. and Exptl. Therp. Vol. 128 (1): Jun: 1952.
26. Muñoz, C.: Acción de las Catecolaminas en el Sistema Nervioso Central; Centro de Publicaciones Biológicas. Univ. de Chile; 1963.
27. Ortiz Rodríguez, A.: Acción anticonvulsivante de la Cocaína y otros IMAO, Posible mecanismo de Acción. Tesis Bachiller F. de M. de la U.N.M. de S.M., 1963.

28. Pan, S. et. al.: Anticovulsant effect of Nialamide and Diphenylhydantoin; Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.: Vol. 108 (3): 680-683; 1961.
29. Prockop, D. P., Shore, P. A., and Brodie, B. B.: Anticonvulsant properties of monoaminoxidase inhibitors; Ann. N.Y. Acad. Sci.: 80 (3): 626; 1959.
30. Spector Sidney: Monoaminoxidase in control of Brain serotonin and nor epinephrines Content. Ann. of the N.Y. Acad. of Sci.: 107 (3): 856-861; 1963.
31. Swinyard, E. A., Beowers, W. C., and Goodman, L. S.: Comparative Assay of Anticpileptic drugs in Mice and Rats; J. of Ph. and Exptl. Therpt., 106: 319-330; 1952.
32. Tedeschi, R. E., Tedeschi, D.H., Ames P. L., Cook, L., Mattis P. A. and Fellows E. J., Some pharmacological observations on Tranilcipromine (SKF-trans-385); a potent inhibitor of oxidase. Proc. of the Soc. Exptl. Biol. and Med.; 102: 380-381; 1959.
33. Tedeschi, R. E., Tedeschi, D.F., and Fellows: Neuropharmacology of Tranilcipromina and Trifluoperazine. Canad. Psychiat. Assoc. J. 7 (supp): 555-9; 1962.
34. Toman, J.E., and Goodman, L.S.: Anticonvulsante; Physiolog. Rev. 28: 409, 1948.
35. Weiner, N. Hagen. P.: Federation Proc. 18: 1005; 1959.
36. Yen, H.C.Y.: Anita, T. Salvatore, Silverman, A.J., and King T.O.: A study of the effect of Iproniacid on anticonvulsants in mice; Arch. Int. Pharmdyn; 3-4, CXL; 1962.
37. Zeller, E. A., Blanksma, L.A., Buckard, N.P., Pacha, W.L., Lazanas, J.C.: In vitro and in vivo inhibitions of Amine Oxidase; Ann. of the N.Y. Acad. of Sci.: 80 (3), 583-589; 1959.