

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS
Y BIOTECNOLÓGICAS**
PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“ESTUDIO DEL EFECTO ANTICONVULSIVANTE DEL
EXTRACTO PENTÁNICO DE *Lepidium peruvianum Chacón sp.*
(MACA) EN RATAS CON EPILEPSIA INDUCIDA POR
PILOCARPINA”**

Tesis Presentada por:

Bach. Taboada Rosell, Katerin

**Bach. Tejeda Sebastiani, Andressa del
Carmen**

Para optar al título profesional de **Químico
Farmacéutico**

Asesora:

Karin J. Vera López, PhD

Arequipa – Perú

2013

PRESENTACIÓN

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas.

Señora Directora del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Señores Miembros del Jurado Dictaminador de la Tesis

De conformidad con las disposiciones del Reglamento de Grados y Títulos del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica, pongo a vuestra consideración el presente trabajo de investigación titulado:

“ESTUDIO DEL EFECTO ANTICONVULSIVANTE DEL EXTRACTO PENTÁNICO DE *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) EN RATAS CON EPILEPSIA INDUCIDA POR PILOCARPINA”

El trabajo de investigación fue realizado aplicando los conocimientos adquiridos durante nuestra formación universitaria, el mismo que al ser aprobado nos permitirá optar por el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Arequipa, 12 de Junio del 2013

"El futuro tiene muchos nombres. Para los débiles es lo inalcanzable. Para los temerosos, lo desconocido. Para los valientes es la oportunidad."

Víctor Hugo

En todos los asuntos humanos hay esfuerzos, y hay resultados, y la fortaleza del esfuerzo es la medida del resultado.

James Allen

Se reconoce que el mayor esfuerzo de la razón humana consiste en reducir los principios productivos de los fenómenos naturales a una mayor simplicidad, y los muchos efectos particulares a unos pocos generales por medio de razonamientos apoyados en la analogía, la experiencia y la observación.

David Hume

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido concluir con mis estudios, por haberme dado fuerzas para resolver problemas y de esta manera cumplir mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres **Froilan** y **Dina** por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor y su constante aliento para que pueda concluir con mis estudios y de esta manera poder alcanzar mi meta de ser profesional

A mi hermano **Miguel Angel** y a mis tías **Rene** y **Miguelina** por su constante apoyo, motivación y especialmente su cariño.

Quiero agradecer de manera especial a **Francisco Romero Cabral, PhD** que siempre estuvo con nosotras en todo momento y gracias a todas sus enseñanzas y apoyo incondicional para poder concluir satisfactoriamente con nuestro trabajo. También quiero agradecer al **Instituto del Cerebro del Hospital Israelita Albert Einstein – Sao Paulo, Brasil** por la oportunidad de realizar y apoyarnos en este proyecto. Del mismo modo un agradecimiento especial a **José Villanueva Salas, PhD, Alejandro Pino Figueroa, PhD, Timothy Maher, PhD** y al **Dr. Mark Bohlke**; por su apoyo en la realización de nuestro proyecto.

Agradezco de manera especial a nuestra asesora **Karin Vera López, PhD**, que por sus valiosos aportes, por sus conocimientos y por su apoyo incondicional durante la realización de nuestro proyecto.

KATERIN

Agradezco en primer lugar a mis padres **Andres** y **Carmen**, a mis hermanas **Alejandra**, **Gabriela** y **Fernanda**, a mis abuelos **Alvaro** y **Carmen**, y a **Sandra Sebastiani**, por apoyo incondicional para que pueda concluir con mis estudios, hasta alcanzar la meta de ser profesional.

También quiero agradecer de manera especial a **Romero Cabral, PhD** y que siempre estuvo con nosotras en todo momento, y gracias a ellos y todas sus enseñanzas pudimos culminar satisfactoriamente con este trabajo, y agradecer al **Instituto del Cerebro del Hospital Israelita Albert Einstein- Sao Paulo, Brasil** por darnos la oportunidad de realizar y apoyarnos en este proyecto. Igualmente un agradecimiento especial a **José Villanueva Salas, PhD**, **Alejandro Pino Figueroa, PhD**, **Timothy Maher, PhD** y al **Dr. Mark Bohlke**; por su apoyo en la realización del proyecto.

Agradezco de manera especial a nuestro asesor **Karin Vera López, PhD** quien en todo momento nos brindó su apoyo y sus conocimientos.

ANDRESSA

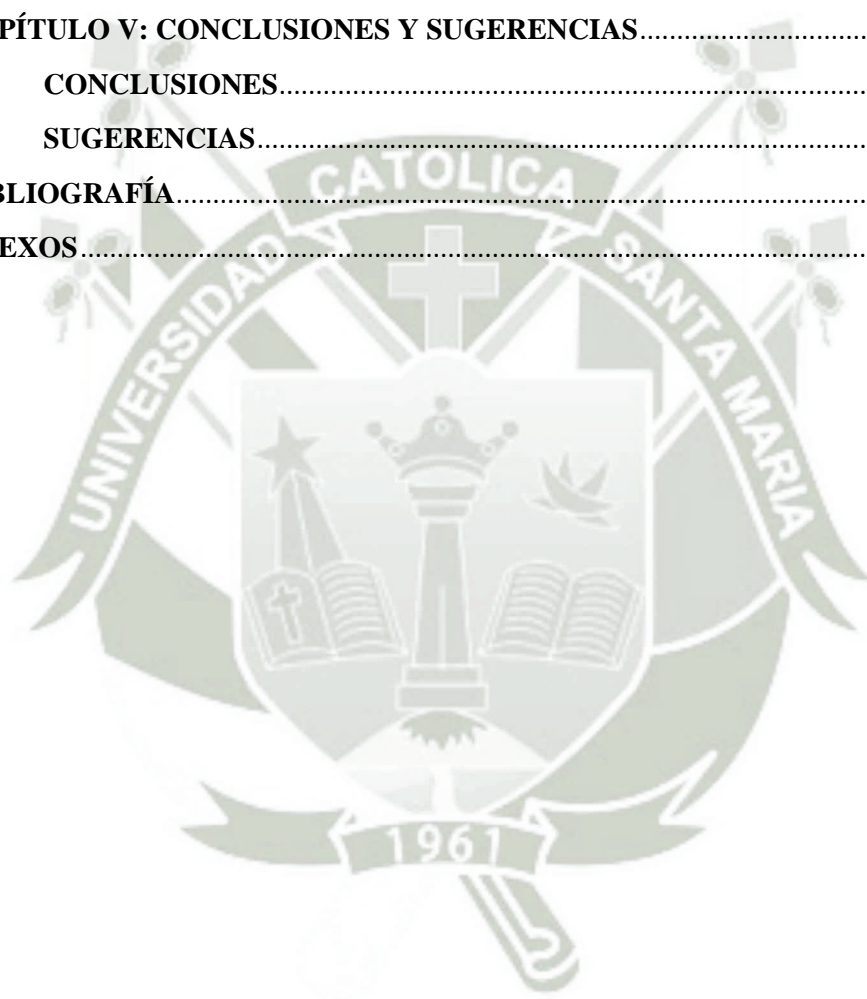
ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	11
ABSTRACT.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS	15
CAPÍTULO I: GENERALIDADES.....	16
1.1. INTRODUCCIÓN	17
1.2. HIPÓTESIS	20
1.3. OBJETIVOS.....	21
1.3.1. Objetivo General.....	21
1.3.2. Objetivos Específicos	21
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. <i>Lepidium peruvianum Chacón sp</i> (MACA)	14
2.1.1 Descripción	14
2.1.2 Clasificación Taxonómica.....	14
2.1.3 Requerimientos arqueológicos para el crecimiento	16
2.1.4 Descripción Botánica	16
2.1.5 Características importantes	17
2.1.6 Ecotipos	17
2.1.7 Composición Química.....	18
2.1.8 Estudios de la Maca como planta medicinal.....	24
2.1.9 Efecto neuroprotector de la Maca	25
2.2. EPILEPSIA	26
2.2.1 Descripción	26
2.2.2 Crisis Convulsiva	27
2.2.3 Tipos de Crisis	28
2.2.3.1. Crisis Parciales	28
2.2.3.2. Crisis Parcial Simple.....	28

2.2.3.3.	Crisis Parciales Complejas	28
2.2.3.4.	Crisis Parcial Generalizada.....	28
2.2.4	Causas de una Crisis.....	30
2.3.	EPILEPSIA DE LÓBULO TEMPORAL.....	32
2.4.	DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DEL LÓBULO TEMPORAL.....	34
2.5.	FORMACIÓN DEL HIPOCAMPO.....	35
2.6.	MIGRACIÓN DE NEURONAS EN LA EPILEPSIA.....	35
2.7.	SISTEMA CANNABINOIDE.....	36
2.7.1.	Descripción	36
2.7.2.	Receptores cannabinoides	38
2.7.3.	Los endocannabinoides.....	38
2.7.5.	Degradación de los endocannabinoides.....	40
2.7.6.	Estudios del sistema endocannabinoide en epilepsia	41
2.8.	MODELO EXPERIMENTAL DE LA PILOCARPINA.....	43
2.9.	APLICACIÓN SISTÉMICA DE LA PILOCARPINA PARA LA INDUCCIÓN DE EPILEPSIA	44
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS		47
3.1.	ÁMBITO DE ESTUDIO	48
3.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	48
3.3.	MATERIALES.....	49
3.3.1.	Material biológico	49
3.3.1.1.	<i>Lepidium peruvianum Chacón sp. (MACA)</i>	49
3.3.1.2.	Animales de experimentación	50
3.3.2.	Sustancias químicas utilizadas.....	50
3.3.3.	Equipos utilizados	50
3.4.	MÉTODOS	51
3.4.1	Obtención del extracto pentánico	51
3.4.1.1.	Obtención de la harina de Maca	51
3.4.1.2.	Extracción metanólica	51
3.4.1.3.	Método de rotavaporación	51
3.4.1.4.	Extracción continua líquido – líquido	52

3.4.2	Análisis del extracto pentánico de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i>(MACA)	52
3.4.3	Ambientación y alimentación de los animales	53
3.4.4	Preparación de las dosis del extracto pentánico de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i>(MACA)	53
3.4.5	Seguimiento de la evaluación de los grupos experimentales	54
3.4.5.1.	Parámetros analizados para el seguimiento de la evaluación de los grupos experimentales.....	54
3.4.6	Análisis histológico.....	55
3.4.6.1.	Perfusión intra – aórtica.....	55
3.4.6.2.	Gelatinización de laminas.....	57
3.4.6.3.	Método de Nissl.....	57
3.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	58
3.5.1.	Evaluación de la cantidad de macamidas obtenidas en el extracto pentánico de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA).....	58
3.5.2.	Análisis del porcentaje de mortalidad al momento de la aplicación de pilocarpina	59
3.5.3.	Análisis de los pesos antes de la aplicación de pilocarpina, al inicio de tratamiento y peso promedio después de los 31 días de tratamiento.....	59
3.5.4.	Análisis de la ganancia de peso durante los 31 días de tratamiento por cada grupo experimental	59
3.5.5.	Análisis del tiempo de latencia entre la primero crisis y el status epiléptico después de la inyección de pilocarpina	59
	CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
4.1	Obtención de la harina de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA)	62
4.2	Extracción de macamidas a partir de la harina de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA).....	63
4.2.1.	Extracción metanólica	63
4.2.2.	Concentración por rotavaporación	63
4.2.3.	Extracción continua líquido – líquido	64
4.2.4.	Concentración de macamidas por rotavaporación	65
4.3	Evaluación de la cantidad de macamidas obtenidas en el extracto pentánico de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA).....	65
4.4	Análisis del porcentaje de mortalidad al momento de la administración de pilocarpina	67

4.5	Tiempo latencia desde la aplicación de la pilocarpina hasta la primera crisis y el status epiléptico	68
4.6	Análisis del peso de las ratas antes de la administración de pilocarpina, al inicio de tratamiento y peso promedio después de los 31 días de tratamiento.....	77
4.7	Análisis de la ganancia de peso durante los 31 días de tratamiento por cada grupo experimental	80
4.8	Frecuencia de crisis durante los 31 días de tratamiento.....	83
4.9	Análisis de migración neuronal a nivel del hipocampo y giro dentado.....	99
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS.....		104
5.1.	CONCLUSIONES.....	105
5.2.	SUGERENCIAS.....	106
BIBLIOGRAFÍA.....		107
ANEXOS.....		113



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diferentes Ecotipos de Maca.....	17
Figura 2: Derivado Bencilado 1,2-dihidro-N-hidroxipiridina (MACARIDINA).....	19
Figura 3: N-bencil-5-oxo-6E,8E-octadecadienamida (MACAMIDA).....	19
Figura 4: 4N-bencil hexadecanamida (MACAMIDA).....	19
Figura 5: 5 Ácido 5-Oxo-6E,8E-octadecadienoico (MACAENO).....	20
Figura 6: Tipos de Crisis Convulsiva.....	29
Figura 7: Modelo de señalización por endocannabinoides a través de receptores CB ₁	37
Figura 8: Distribución de los receptores endocannabinoides en el cuerpo.....	41
Figura 9: Modelo Experimental de la Pilocarpina.....	46
Figura 10: Cálculo diario para la preparación de una dosis por animal de experimentación.....	54
Figura 11: Pasos de la Perfusión intra – aórtica.....	56
Figura 12: Obtención de la harina de “MACA”.....	62
Figura 13: Extracción metanólica.....	63
Figura 14: Rotavapor.....	64
Figura 15: Extracción Pentánica.....	64
Figura 16: Macamidas.....	65
Figura 17: Estructura base de la Macamidas.....	66
Figura 18: Tiempo de latencia entra la primera crisis y el status epiléptico.....	70
Figura 19: Promedio de pesos por animal en cada etapa.....	79
Figura 20: Promedio de pesos por grupo de experimentación.....	82
Figura 21: Frecuencia de crisis durante los 31 días de tratamiento.....	87
Figura 22: Frecuencia de crisis por ANOVA.....	98
Figura 23: Región CA1 del hipocampo.....	101
Figura 24: Región CA3 del hipocampo.....	102
Figura 25: Región HILO del giro dentado.....	103

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonómica de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp</i> (MACA) ..	15
Tabla 2: Lista de Ecotipos de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA)	18
Tabla 3: “Screening” fitoquímico de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA) ..	21
Tabla 4: Vitamina presentes en la <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA)	21
Tabla 5: Minerales presentes en la <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA)	22
Tabla 6: Composición química de la <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA) ..	22
Tabla 7: Aminoácidos presentes en la <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA).	23
Tabla 8: Tipo de tratamiento utilizado	49
Tabla 9: Análisis del extracto pentánico de <i>Lepidium peruvianum Chacón sp.</i> (MACA)	66
Tabla 10: Descripción de la población de animales en estudio	67
Tabla 11: Tiempo de latencia entre la primera crisis y el status epiléptico	69
Tabla 12: Prueba t de Student entre el grupo I y II	71
Tabla 13: Prueba t de Student para muestras independientes entre el grupo I y II	72
Tabla 14: Prueba t de Student entre el grupo I y III	73
Tabla 15: Prueba t de Student para muestras independientes entre el grupo I y III... 74	
Tabla 16: Prueba t de Student entre el grupo II y III	75
Tabla 17: Prueba t de Student para muestras independientes entre el grupo II y III . 76	
Tabla 18: Promedio de pesos por animal en cada etapa	78
Tabla 19: Promedio de pesos por grupo de experimentación en 31 días de tratamiento	81
Tabla 20: Frecuencia de crisis de los animales en los 31 días de tratamiento	86
Tabla 21: Prueba t de Student para el grupo control y dosis 5 mg/kg de peso	88
Tabla 22: Prueba t de Student para muestras independientes para el grupo control y dosis 5 mg/kg de peso	89
Tabla 23: Prueba t de Student para el grupo control y dosis 1 mg/kg de peso	90
Tabla 24: Prueba t de Student para muestras independientes para el grupo control y dosis 1 mg/kg de peso	91
Tabla 25: Prueba t de Student para la dosis de 1 mg/kg de peso y dosis 5 mg/kg de peso	92

Tabla 26: Prueba t de Student para muestras independientes para la dosis de 1 mg/kg de peso y dosis 5 mg/kg de peso	93
Tabla 27: Frecuencia de crisis por los 31 días de tratamiento por la prueba ANOVA	94
Tabla 28: Frecuencia de crisis por los 31 días de tratamiento por inter-grupos y intra-grupos según la prueba ANOVA	95
Tabla 29: Frecuencia de crisis por los 31 días de tratamiento mediante pruebas Post Hoc por la prueba ANOVA.....	96
Tabla 30: Frecuencia de crisis por los 31 de tratamiento mediante comparaciones múltiples por la prueba ANOVA	97



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Crisis parcial y crisis parcial simple.....	114
Anexo 2: Crisis parcial compleja	114
Anexo 3: Crisis parcial generalizada.....	115
Anexo 4: Morfogénesis del lóbulo temporal.....	115
Anexo 5: Aspecto medial y lateral del lóbulo temporal.....	116
Anexo 6: Estructura y conexiones del hipocampo.....	117
Anexo 7: Migración neuronal en el CA1	118
Anexo 8: Distribución de los receptores canabinoides en el cerebro.....	118
Anexo 9: Distribución de los receptores endocannabinoides en el cuerpo.....	119
Anexo 10: Biotério CETEC	120
Anexo 11: Sistema de video.....	121
Anexo 12: Macamida con ácido linoleico.....	121
Anexo 13: Tabla de frecuencias de crisis por día	122
Anexo 14: Tabla de frecuencia de crisis por 31 días de tratamiento	123
Anexo 15: Figura de la frecuencia de crisis por 31 días de tratamiento	123

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal evaluar el efecto anticonvulsivante del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), en la fase crónica del modelo de Epilepsia de Lóbulo Temporal inducida por Pilocarpina, en ratas sometidas a tratamiento durante 31 días.

Se obtuvo el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), a partir de 750 g de harina de Maca, por medio de extracción por Soxhlet seguida de una extracción continua líquido – líquido, obteniendo 10.32 g de extracto pentánico. Posteriormente se realizó el análisis de macamidas presentes en el extracto pentánico, donde se evidenció que la macamida más concentrada fue la del Ácido Linoleico.

Se realizó un análisis del modelo al momento de la aplicación de pilocarpina, en el cual se utilizaron un total de 46 ratas (Wistar) teniendo como resultado que un 46% del total de animales utilizados entraron en status epiléptico (SE), evidenciando que el modelo utilizado para producir epilepsia fue adecuado.

Las 23 ratas (Wistar) sometidas al modelo de inducción de epilepsia por pilocarpina, fueron divididas en 4 grupos experimentales, teniendo así: **Grupo 0 (Control Sano)** el cual no fue sometido al modelo de pilocarpina ni recibió tratamiento, **Grupo I (Control)** al cual se le administró solución diluyente del extracto, **Grupo II (Dosis de 1 mg/kg de peso)** y **Grupo III (Dosis de 5 mg/kg de peso)**, a los cuales se les administró el Extracto pentánico de la *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) durante 31 días.

Los animales iniciaron el tratamiento con el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), desde el momento en que presentaron la primera crisis espontánea, después de la administración de pilocarpina, y fueron

monitoreados por cámaras de video las 24 horas del día, durante los 31 días de tratamiento para la evaluación de la frecuencia de crisis. Terminado el tratamiento se realizó una perfusión intra-aortica para posteriormente extraer el cerebro de cada animal, luego se realizó una coloración de Nissl para poder hacer una diferenciación con respecto a la migración neuronal a nivel de hipocampo en las zonas: Cuerpo de Amón (CA1), Cuerpo de Amón (CA2), Cuerpo de Amón (CA3) y Giro Dentado (GD).

Para la evaluación de la frecuencia de crisis, las pruebas estadísticas utilizadas fueron una Prueba t de Student y ANOVA (Tukey, Tukey b y Duncan), los resultados mostraron que la **Dosis de 1 mg/kg de peso** presenta una disminución significativa de la frecuencia de crisis en comparación con el **Grupo Control y la Dosis de 5 mg/kg de peso**, que resultaron ser significativamente iguales. El análisis histológico permitió evidenciar que la zona más afectada es la región CA1 del hipocampo, existiendo a este nivel mayor migración neuronal en el **Grupo III**.

Con la presente investigación se puede concluir que el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), posee un efecto anticonvulsivante a dosis baja (**Dosis 1 mg/kg**), mientras que a dosis elevadas (**Dosis 5 mg/kg**), no presenta un efecto anticonvulsivante siendo semejante al **Grupo Control** con respecto a la frecuencia de crisis ($P \leq 0.05$).

ABSTRACT

The present investigation work had as a principal objective to evaluate the anti-convulsive effect of the pentanic extract of *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), in the chronic phase of Epilepsy induced by the Pilocarpine model, in rats treated for 31 days.

The pentanic extract of *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), was obtained, from 750 g of Maca flour, by soxhlet extraction, followed by a continuous liquid-liquid extraction. Getting in that way 10.32 g of the pentanic extract. Later an analysis of the macamides that the petanic extract contained was preformed, where we were able to see that the macamide that was more concentrated was the macamide of the Linoleic acid.

It was made an analysis of the model at the moment of the application of the pilocarpine, in which there were used a total of 46 rats (WISTAR) having as a result that the 46% from the total of the rats that were used got into the status epilepticus (SE), showing that the model used was adequate to produce epilepsy.

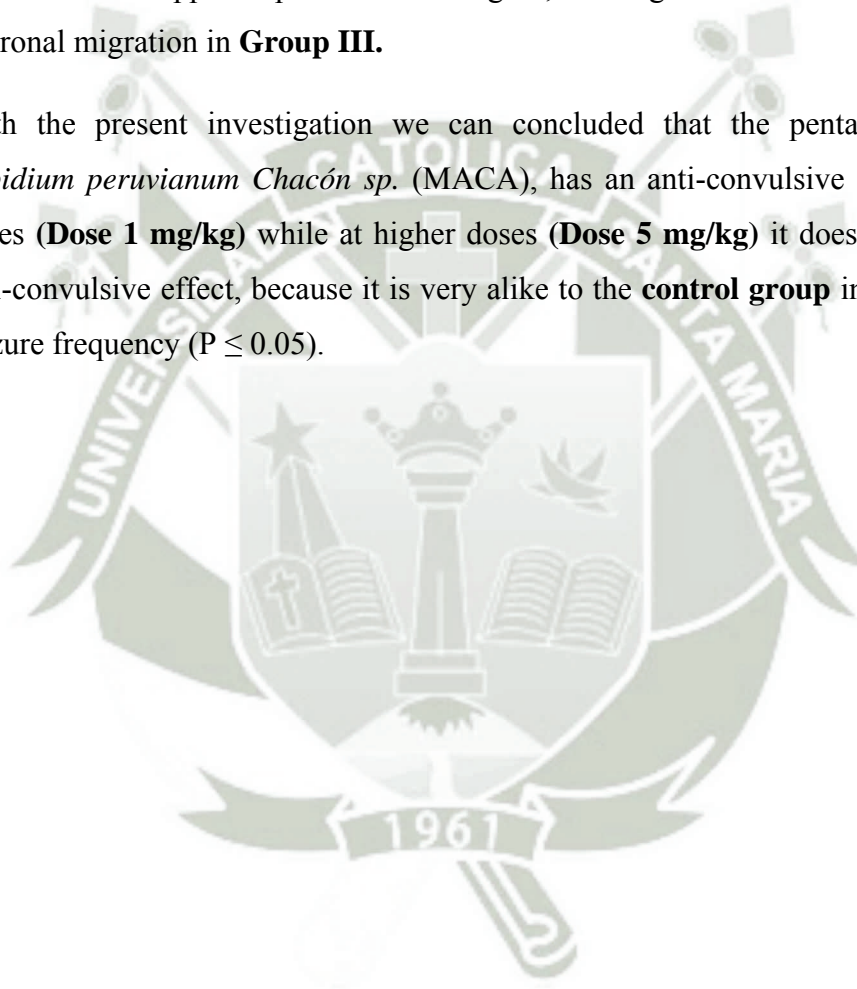
The 23 rats (WISTAR) subject to epilepsy model induced by pilocarpine, they were divided into 4 experimental groups, thus having: Group 0 (healthy control) which was not submitted to pilocarpine model nor received treatment, Group I (Control) to which diluent solution of the extract was administered, Group II (1 mg / kg) and Group III (5 mg / kg), to which were administered the pentanic extract of *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) for 31 days.

The animals started the treatment with the pentanic extract of *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) since the moment that they presented the first spontaneous seizure, after the application of pilocarpine, and they were monitored by video cameras 24 hours a day during the 31 days of treatment to evaluate the seizure frequency. After the treatment was finished an intra-aortic perfusion was performed to extract the brain of each animal, these was followed by a Nissl coloration to make the differentiation of the neuronal migration at the hippocampal level, in the

following areas: Amon Corps (CA1), Amon Corps (CA2), Amon Corps (CA3) and dentate gyrus (DG).

For the evaluation of the frequency of seizures, statistical tests were made. The t of student test, and an ANOVA test (Tukey, Tukey b and Duncan), in which we were able to see that the **dose of 1 mg/kg of weight** presents a significant decrease in seizure frequency compared with the control group and the **dose of 5 mg/kg of weight**, which is significantly equal. The histological analysis showed that the most hit area in the hippocampus was CA1 region, existing at this level increased of the neuronal migration in **Group III**.

With the present investigation we can concluded that the pentanic extract of *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), has an anti-convulsive effect at lower doses (**Dose 1 mg/kg**) while at higher doses (**Dose 5 mg/kg**) it doesn't presents an anti-convulsive effect, because it is very alike to the **control group** in respect of the seizure frequency ($P \leq 0.05$).



LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados Centígrados
µg	microgramos
SE	Status Epilépticos
ELT	Epilepsia de Lóbulo Temporal
ELTM	Epilepsia de Lóbulo Temporal Mesial
kg	kilogramos
mg	Miligramos
g	Gramos
PILO	Pilocarpina
mL	Mililitros
SNC	Sistema Nervioso Central
CA1	Cuerpo de Amón 1
CA2	Cuerpo de Amón 2
CA3	Cuerpo de Amón 3
GD	Giro Dentado
WHO	Organización Mundial de la Salud
ILAE	Liga internacional contra la Epilepsia
AEA	N-araquidonil-etanolamida
2-AG	2-araquidonil-glicerol
NADA	N-araquidonil-dopamina
GABA	Acido Gamma Amino Butírico
AMPc	Adenosin Monofosfato Cíclico
IP	Intraperitoneal
MGL	Monoacilglicerol lipasa
EE	Estado Epiléptico
CG	Células Granulares
h	Horas

CAPÍTULO I: GENERALIDADES



1.1. INTRODUCCIÓN

La *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) pertenece al género Brassicaceae, es una planta herbácea cultivada en la Cordillera de los Andes Centrales del Perú a 3.800 - 4.800 m.s.n.m., es también conocida como el Ginseng Peruano ⁽¹⁾. La Maca presenta muchos compuesto liposolubles pudiendo tener una actividad sobre el Sistema Nervioso Central, por este motivo fueron estudiados los efectos sobre el aprendizaje y la memoria en ratas ⁽²⁾ y en ratas con problemas de memoria inducida por escopolamina ⁽³⁾.

Estudios anteriores demostraron que la Maca presenta propiedades farmacológicas en el sistema reproductivo con aumento de la fertilidad ^{(4) (5) (6) (7) (8)}, en el rendimiento sexual y la función eréctil ^{(9) (10) (11) (12)}, en la disminución de la ansiedad y depresión en las mujeres después de la menopausia ⁽¹³⁾, además presenta capacidad iatrogénica ⁽¹⁴⁾, y también presenta función anti-proliferativa de la próstata ^{(15) (16) (17)}.

La administración de la Maca redujo efectos producidos por estrés, con aumento de los niveles de corticosterona, y otros parámetros relacionados como: el tamaño de las glándulas supra-renales y úlceras inducidas por el estrés, hasta la disminución de los ácidos grasos libres y niveles de glicosis plasmáticos ⁽¹⁸⁾.

Estudios realizados por Alejandro Pino Figueroa, docente del Massachusetts College of Pharmacy and Health Sciences (MCPHS), en Boston – EUA, y colaboradores de este proyecto, demostraron la actividad neuroprotectora del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) ⁽¹⁹⁾.

El sistema endocannabinoide juega un papel central en la comunicación sináptica retrograda, y podría controlar la propagación de la actividad en una red epileptogénica. Al usar el modelo de la pilocarpina para inducir epilepsia de lóbulo temporal en ratas, se examinó el receptor CB1 en el sistema

endocannabinoide. Donde al final del estudio se pudo evidenciar que la gravedad de los cambios en el receptor CB1 está relacionada a la gravedad de la lesión en el hipocampo ⁽²⁰⁾.

Los endocannabinoideos se liberan de las neuronas postsinápticas de una manera dependiente a la actividad, y se unen a receptores presinápticos CB1, suprimiendo así la liberación del transmisor desde los terminales presinápticos, además los receptores CB1 en los terminales glutamatergicos, demostraron un efecto anticonvulsivo, mediante la atenuación de la liberación de glutamato. Además un antagonista del receptor CB1 demostró prevenir el incremento a corto plazo de la susceptibilidad de las crisis. Estudios en humanos demostraron que las crisis recurrentes pueden llevar a una reorganización adversa del sistema endocannabinoide y al deterioro del efecto protector ⁽²⁰⁾.

La epilepsia es una enfermedad crónica, de alta prevalencia que puede aparecer en cualquier momento sin importar la edad, raza o clase social. Se calcula que existen 50 millones de personas con epilepsia en el mundo, observando que un 85.4 % de ellas viven en países en vías de desarrollo, esto se debe a que no tienen acceso a buenos Sistemas de Salud y/o conocimiento de la enfermedad, tienen problemas de desnutrición y muchas dificultades para conseguir un tratamiento adecuado ⁽²¹⁾.

Es caracterizada por crisis repetidas debido a un desorden de las células cerebrales, siendo crónica, aunque las crisis pueden empezar a cualquier edad y presentarse esporádicamente o frecuentemente. Algunos tipos de epilepsia están relacionados a la edad, y hay quienes sufren de epilepsia toda su vida y otros solo algunos años (un promedio de 13 años aproximados) ⁽²²⁾.

Es un problema de salud que afecta mundialmente a un 85% de países en vías de desarrollo como es el Perú. El número medio de personas con epilepsia por 1000 habitantes varia de 7.99 % en los países de altos ingresos, a 9.50 % en los países con bajos recursos económicos ⁽²¹⁾.

El rango de incidencia en el cual nuevos casos de la enfermedad ocurren en un periodo de tiempo, son anualmente calculados en una población de 100 000 personas. En todos los estudios anuales el rango de incidencia es mayor en grupos de personas jóvenes, disminuyendo en niños y adultos, volviendo a incrementarse en ancianos ⁽²¹⁾.

La epilepsia se puede desarrollar después de un evento particular identificable (asfixia, meningitis, contusión cerebral) en este caso se llama *Epilepsia Sintomática* y también puede ser desarrollada sin causa identificable, entonces es llamada *Epilepsia Idiopática* ⁽²²⁾.

Actualmente se pueden encontrar datos sobre los endocannabinoides y su participación en el funcionamiento del cerebro, así como también la participación del Sistema Endocannabinoide en muchas enfermedades neurodegenerativas, incluyendo epilepsia, ansiedad, depresión, enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, accidente cerebrovascular, cáncer, dependencia de drogas, glaucoma, uveítis autoinmune, osteoporosis, sepsis hepática, renal e intestinal y trastornos cardiovasculares ⁽²³⁾.

La función principal de los endocannabinoides en el cerebro es la implementación de la función sináptica retrograda de comunicación y neuromodulación ⁽²³⁾. El Sistema Endocannabinoide juega un papel fundamental en la comunicación sináptica retrograda y podría controlar la propagación de la actividad en una red epiléptica ⁽²⁰⁾.

Los cannabinoides endógenos sirven como neuroprotectores a demanda, son producidos postsinápticamente en respuesta a la despolarización o a la activación de receptores de glutamato metabotrópicos (mGluRs) y actúan sobre la neurona presináptica del receptor cannabinoide-1 para suprimir la transmisión sináptica ⁽²⁴⁾.

El modelo que fue utilizado en el presente estudio, fue inducción de epilepsia por Pilocarpina ya que está mimetiza en roedores a la Epilepsia de Lóbulo Temporal (ELT) de humanos y recibe generalmente el nombre de *modelo de la pilocarpina*, hoy en día es uno de los modelos más utilizados para inducir epilepsia teniendo en cuenta sus características histológicas, bioquímicas, farmacológicos, electrofisiológicas y de comportamiento ⁽²⁵⁾.

Es por esto que deseamos evaluar la susceptibilidad de crisis epilépticas en ratas sometidas al modelo de epilepsia inducido por pilocarpina y tratarlas con extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp* (MACA) visto que esta substancia, al actuar a nivel del sistema cannabinoide, podría modular la excitabilidad neuronal, protegiendo a las neuronas de la excitotoxicidad.

1.2. HIPÓTESIS

Dado que el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), por actuar sobre el sistema cannabinoide, es posible que reduzca la excitabilidad neuronal, teniendo con esto un efecto neuroprotector y antiepileptogénico.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la actividad antiepiléptica del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), en ratas sometidas al modelo de epilepsia inducido por pilocarpina.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Obtención del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) a partir de la harina de Maca.
- Determinar la cantidad de Macamidas en el extracto pentánico *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA).
- Determinar el tiempo de latencia entre la primera crisis y el status epiléptico (SE) después de la inyección de pilocarpina.
- Investigar el efecto antiepiléptico del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) sobre a frecuencia de crisis en la fase crónica del modelo.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO



2.1. *Lepidium peruvianum Chacón sp* (MACA)

2.1.1 Descripción

La maca es una planta oriunda del Perú, específicamente de la región de la sierra del País, esta planta fue ampliamente cultivada por los Incas y fue uno de los alimentos más importantes de la época; pero con la llegada de los españoles la producción y consumo de la planta descendió drásticamente, sin embargo hoy se encuentra en proceso de recuperación ⁽²⁶⁾.

La Maca es cultivada entre 3800 y 4800 m.s.n.m. en la cordillera de los Andes del Perú, especialmente en la región de la meseta de Bombom en los departamentos de Junín y Pasco. Se reproduce por semillas que se obtienen de ejemplares maduros y luego se trasplantan a suelos muy fértiles. Las semillas pueden mantener su fertilidad hasta por 4 años. La cosecha se realiza entre los 6 y los 9 meses de haber sido sembrada ⁽²⁶⁾.

La planta es resistente a climas extremos; heladas, granizadas, sequías prolongadas y vientos fuertes. Es resistente a enfermedades y plagas que atacan los cultivos andinos. La Maca va a la vanguardia de muchas plantas ya que cuenta con un gran valor nutritivo y energético por lo que se considera un poderoso reconstituyente físico, mental y sexual ⁽²⁷⁾.

2.1.2 Clasificación Taxonómica

En 1843 Gerhard Walpers realiza la primera descripción científica de la Maca, al quedar sorprendido con la facilidad de reproducción de la planta en un hábitat tan extremo. La Maca, inicialmente, toma el nombre científico de *Lepidium meyenii* Walpers ⁽²⁶⁾.

En 1961 la Dra. Gloria Chacón de Popovici, en su Tesis de Bachiller, realiza el primer estudio serio sobre la maca. En una investigación de la literatura botánica revela que la planta estudiada por el botánico alemán G. Walpers, se

asemejaba mucho a la maca pero sin los mismos efectos medicinales de la Maca peruana, crece en partes de Bolivia y Chile ⁽²⁶⁾.

La joven estudiante localizó e identificó una nueva especie, la cual llamó *Lepidium peruvianum Chacón sp.* Es una clasificación aceptada por la mayoría de herbarios en Estados Unidos y Europa como una nueva verdadera especie, curiosamente en Perú sigue siendo llamada por el nombre erróneo de *Lepidium meyenii* Walpers (Tabla 1) ⁽²⁶⁾.

Tabla 1: Clasificación taxonómica de *Lepidium peruvianum Chacón sp* (MACA)

REINO	VEGETAL
DIVISIÓN	Fanerógamas
SUB DIVISIÓN	Angiospermas
CLASE	Dicotiledóneas
ORDEN	Arquiclamideas
FAMILIA	Rhoedales
GÉNERO	Brassicaceae
ESPECIE	Lepidium
VARIEDAD	<i>Lepidium peruvianum</i> Chacón sp.
NOMBRE COMÚN	Maca, Maca Maca, Ayak chichita, Maka, Maino, Huto-huto, Ginseng peruano, Viagra peruano, Ayak willku, pepper weed, power root and herbal viagra.

FUENTE: “MACA” Planta Medicinal y Nutritiva del Perú – Dra. Lida Obregón Vilches

2.1.3 Requerimientos arqueológicos para el crecimiento

- **LUZ SOLAR:** Requiere de periodos cortos de luz para el buen crecimiento ⁽²⁸⁾.
- **ALTITUD:** Crece con normalidad entre 3800 y 4800 m.s.n.m, sin embargo la mayoría de los cultivos se encuentran a 3900 y 4100 m de altitud ⁽²⁸⁾.
- **BAJAS TEMPERATURAS:** Se ha reportado que la maca ha soportado heladas nocturnas de -10°C, lo que ha sido posible gracias a su cercanía con formaciones de Ichu que contribuyen a protegerla de frio extremo ⁽²⁸⁾.
- **ALTAS TEMPERATURAS:** Generalmente soporta temperaturas de 18°C, sin embargo ocasionalmente puede resistir 22°C ⁽²⁸⁾.
- **TIPO DE SUELO:** Prefiere suelos de tipo arcilloso y con abundante materia orgánica ⁽²⁸⁾.

2.1.4 Descripción Botánica

La maca presenta una raíz (hipocotileo) de forma globosa, redondeada, axonofoma y napiforme, tiene colores variados que van desde el amarillo claro a negro, con un tamaño de 4-5 cm de diámetro transversal y de 5-8 cm de diámetro longitudinal. El tallo principal es reducido, del que nacen varias ramas secundarias ⁽²⁹⁾.

Las hojas son arrosetadas, pecioladas y tienen un largo de 6 a 9 cm. La inflorescencia es un racimo compuesto y simple; las flores son perfectas; forman grupos, son axiales y hermafroditas, actinofomas de color verde claro y pequeñas. El fruto presenta una silicua, ligeramente emarginada, con una sola semilla en cada celda. Ovoide de color amarillento-rojizo y puede medir de 4-5 mm de longitud. La semilla es ovoide y mide 2 mm de longitud ⁽²⁹⁾.

2.1.5 Características importantes

La Maca es cleistógama y autógama, es decir, el perianto de las flores no puede abrirse y por ese motivo los órganos sexuales permanecen ocultos en su interior; su fecundación es siempre autógama o auto fértil. La duración de la fase sexual es de 5 meses. Las macas moradas tienen una menor duración de su fase sexual que las macas amarillas ⁽³⁰⁾.

2.1.6 Ecotipos

Se describen los ecotipos de la Maca teniendo en cuenta el color externo de la raíz, siendo los principales; amarillo, rojo, negro y morado, aunque también hay diferentes sub categorías ^{(27) (31)}.

1. Variedad amarillo - cremosa.
2. Variedad morada con franjas amarillas
3. Variedad morada
4. Variedad negra.

Las diferentes coloraciones externas de las raíces se deben principalmente a la presencia de antocianinas (compuestos fenólicos con estructuras semejantes a los flavonoides) y probablemente a la existencia de xantofila que son pigmentos ampliamente distribuidos en los vegetales superiores, confiriéndoles a estas una coloración amarilla, roja o azul (Tabla 2) ^{(27) (31)}.

Figura 1: Diferentes Ecotipos de Maca



FUENTE: Obregón Vilches, 1997 ⁽²⁶⁾

Tabla 2: Lista de Ecotipos de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

COLOR EXTERNO DE LA RAÍZ	PORCENTAJE (%)
Amarillo	47.8
Rojo-blanco	16.5
Morado-blanco	9.0
Blanco-rojo	6.3
Plomo	5.4
Negro	4.2
Rojo-amarillo	3.7
Blanco	2.2
Blanco-morado	1.6
Amarillo-rojo	1.3
Plomo-claro	0.8
Morado-plomo	0.7
Amarillo-plomo claro	0.5

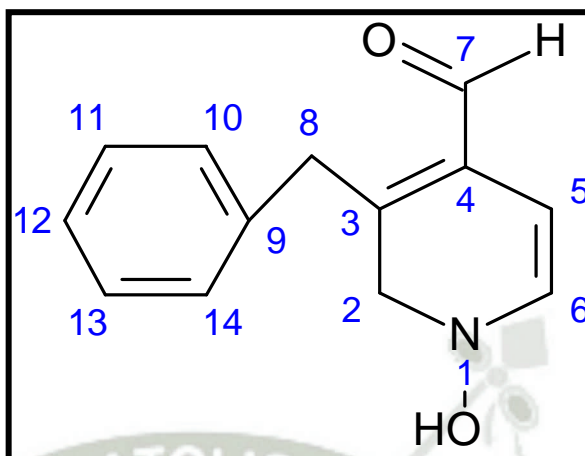
FUENTE: “Maca” Planta Medicinal y Nutritiva del Perú – Obregón
Vilches, Lida, 1997

2.1.7 Composición Química

Compuestos Nitrogenados

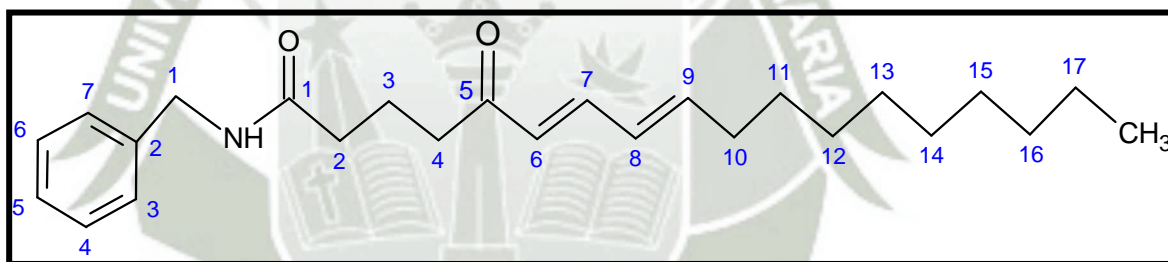
El tubérculo del *Lepidium peruvianum Chacón sp* (MACA), contiene el derivado benzilado de 1,2 –Dihidro-N-hidroxipiridina, llamada macaridina junto con el alcaloide benzilado macamida: N-Benzil–5-oxo – 6E, 8E-octadecadienamida y N-Benzilhexadecanamida ⁽³⁰⁾.

Figura 2: Derivado Bencilado 1,2-dihidro-N-hidroxipiridina
(MACARIDINA)



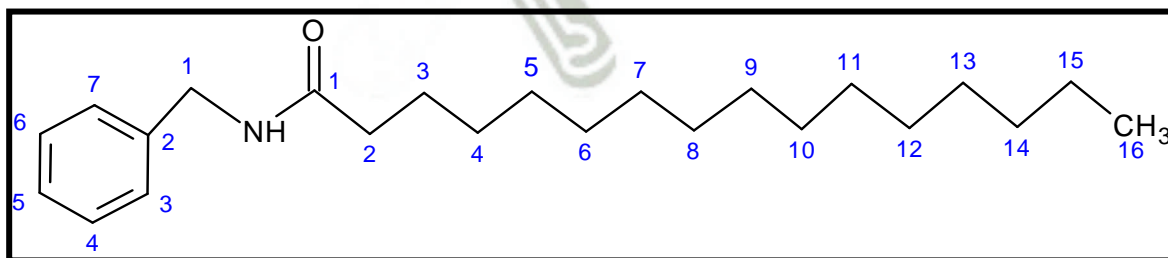
FUENTE: Elaboración propia - Software Chemskech

Figura 3: N-bencil-5-oxo-6E,8E-octadecadienamida (MACAMIDA)

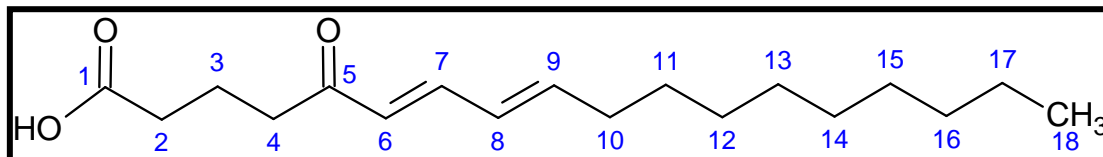


FUENTE: Elaboración propia - Software Chemskech

Figura 4: 4N-bencil hexadecanamida (MACAMIDA)



FUENTE: Elaboración propia - Software Chemskech

Figura 5: 5 Ácido 5-Oxo-6E,8E-octadecadienoico (MACAENO)**FUENTE:** Elaboración propia - Software Chems sketch

Además se encuentran metabolitos secundarios que reportan la presencia de alcaloides, glucocinolatos p-metoxibencil, esteroides y/o triterpenos, compuestos fenólicos, flavonoides y/o cumarinas, taninos, glucósidos, saponinas, aminas alifáticas secundarias, aminas terciarias, almidón, ácidos grasos y aceites naturales (Tabla 3) ⁽²⁶⁾.

La Maca contiene gran variedad de vitaminas, encontrándose presentes las vitaminas E y C en gran cantidad, también las vitaminas del complejo B (Tabla 4) ⁽²⁶⁾.

La presencia de minerales que contiene la Maca hace de esta un excelente revitalizante, conteniendo además de potasio y sodio, minerales que son cofactores enzimáticos del organismo, como son el cobre, magnesio y zinc (Tabla 5) ⁽³⁰⁾. Un estudio químico proximal muestra la presencia de aminoácidos y la composición química de la Maca (Tabla 6 y 7).

Tabla 3: “Screening” fitoquímico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

Saponinas
Terpenoides
Flavonoides
Alcaloides
Dextrinas
Antocianinas

FUENTE: “Maca” Planta Medicinal y Nutritiva del Perú. Departamento de Nutrición de la UNA – La Molina

Tabla 4: Vitamina presentes en la *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

VITAMINAS	mg/100ml
Caroteno	0.007
Tiamina (B1)	0.15-117
Riboflavina (B1)	0.31-0.76
Ácido ascórbico	0.80-3.52
Piridoxina (B6)	1.0
Cobalamina (B12)	125.5
Niacina	37.27-43.03

FUENTE: “Maca” Planta Medicinal y Nutritiva del Perú. Departamento de Nutrición de la UNA – La Molina

Tabla 5: Minerales presentes en la *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

MINERALES	mg/100g
Calcio	220
Fosforo	180
Hierro	15.5
Magnesio	0.8
Cobre	5.9
Zinc	3.8
Sodio	18.7
Potasio	20.50

FUENTE: “Maca” Planta Medicinal y Nutritiva del Perú. Departamento de Nutrición de la UNA – La Molina

Tabla 6: Composición química de la *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

COMPONENTES PRIMARIOS	PORCENTAJE
Humedad	5.00 – 19.62
Proteínas	10.00 – 18.25
Cenizas	3.46 – 6.43
Grasa	0.20 – 2.20
Fibra	3.85 – 8.50
Carbohidratos	51.81 – 76.05

FUENTE: “Maca” Planta Medicinal y Nutritiva del Perú. Departamento de Nutrición de la UNA – La Molina

Tabla 7: Aminoácidos presentes en la *Lepidium peruvianum Chacón sp.*
(MACA)

AMINOÁCIDO	(mg/g) DE PROTEÍNA
Alanina	63.1
Arginina	99.4
Ácido aspártico	91.7
Glicina	68.3
Ácido glutámico	156.5
Histidina	21.9
Hidroxiprolina	26.0
Leucina	91.0
Lisina	54.5
Metionina	28.0
Fenilalanina	55.3
Prolina	0.5
Sarcosina	0.7
Serina	50.4
Treonina	33.1
Tirosina	30.6
Valina	79.3

FUENTE: “Maca” Planta Medicinal y Nutritiva del Perú. Departamento de
Nutrición de la UNA – La Molina

2.1.8 Estudios de la Maca como planta medicinal.

La *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) es una planta peruana de la familia Brassicaceae cultivada desde hace más de 2000 años, se utiliza como un suplemento alimenticio y también por sus propiedades medicinales descritas tradicionalmente ⁽³²⁾.

Pruebas científicas experimentales demostraron que la maca es un energizante nutritivo, presenta propiedades potenciadoras de la fertilidad, y actúa en las disfunciones sexuales, osteoporosis, hiperplasia prostática benigna, la memoria y el aprendizaje, y protege la piel contra la radiación ultravioleta. Los ensayos clínicos demostraron la eficacia de la maca en las disfunciones sexuales, así como aumentar el conteo de espermatozoides y su motilidad. ⁽³²⁾.

Se hizo una recopilación de varios estudios de la Maca, para el tratamiento de los síntomas menopáusicos en mujeres postmenopáusicas ⁽³³⁾ demostrando resultados de diferentes estudios.

En un estudio doble ciego (14 mujeres), para determinar los síntomas de la menopausia en mujeres postmenopáusicas, se reportaron mejorías en la función sexual y en los síntomas psicológicos, como la ansiedad y depresión tras el consumo de maca en comparación con el placebo. ⁽³⁴⁾ Por otro lado, prueba los efectos de la *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), sobre los síntomas al inicio de la menopausia en mujeres. Fueron reportadas mejorías durante la ingesta de Maca en comparación con el placebo ⁽¹³⁾.

Sobre la reproducción sexual masculina, se realizaron varios estudios llegando a diferentes conclusiones; el estudio realizado en animales de experimentación con pulverizado de hipocotíleos de maca en diferentes dosis, demostró que el grupo tratado con maca obtuvo una mejoría en la función sexual masculina ⁽⁸⁾.

En relación a las funciones espermatogénicas se vio que la Maca también aumenta la movilidad de los espermatozoides, y en cuanto a la función prostática se vio que la Maca reduce el peso de la próstata de una manera dosis-respuesta sin ningún cambio en los niveles de testosterona y el peso de la vesícula seminal ⁽⁸⁾.

En cuanto al deseo sexual se realizó una revisión sistemática en seres humanos, y dio un resultado positivo sobre la disfunción sexual o el deseo sexual en mujeres menopáusicas sanas y en hombres adultos sanos ⁽⁸⁾.

2.1.9 Efecto neuroprotector de la Maca

La lipofilicidad de muchos compuestos de la Maca, sugirió actividad sobre el sistema nervioso, por este motivo fueron estudiados los efectos sobre el aprendizaje y la memoria en ratas sanas ⁽²⁾ y en ratas con problemas de memoria inducida por escopolamina ⁽³⁾.

Se realizaron estudios de la Maca en animales de experimentación sobre el aprendizaje y la memoria, mencionando que mejora el aprendizaje y la memoria. ⁽⁸⁾.

Estudios realizados por Alejandro Pino Figueroa, docente del Massachusetts College of Pharmacy and Health Sciences (MCPHS), en Boston – EUA, y colaborador en este proyecto, demostraron la actividad neuroprotectora de los extractos de Maca *in-vitro*, en neuronas de cangrejo sometidas a estrés oxidativo con H_2O_2 ⁽³⁵⁾ e *in vivo*, en ratas sometidas a accidente cerebro vascular isquémico. El efecto neuroprotector del extracto pentánico de la maca en concentraciones de 0,1 a 30 $\mu g.ml^{-1}$, mostraron una respuesta dosis-dependiente.

En dosis más bajas es benéfico, antioxidante, anti-apoptótico, capaz de proteger a las neuronas del daño isquémico, en cuanto que en dosis mayores presentan actividad excitatoria, pró-apoptótica y muerte celular ⁽¹⁹⁾. Pino-Figueroa (2010) demostró que algunos de los compuestos lipofílicos de la maca podrían actuar a través del sistema cannabinoide en la protección de las neuronas, y oriento nuevas investigaciones sobre los agentes de la maca en la prevención, en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, neuroprotección, y así como también, sobre los mecanismos de acción moleculares, dosis, farmacocinética y toxicidad ⁽¹⁹⁾.

2.2. EPILEPSIA

2.2.1 Descripción

La epilepsia es un disturbio cerebral caracterizado por episodios de crisis convulsivas relacionadas a descargas eléctricas por un grupo de neuronas en el cerebro, pudiendo asumir varios tipos de crisis dependiendo del área del cerebro afectada, la cual puede tener inicio por medio de una descarga local prolongándose hacia otras áreas del cerebro ⁽³⁶⁾.

El número de personas con epilepsia es alto en la mayoría de las regiones del mundo, constituyendo así, la epilepsia una enfermedad de preocupación de salud pública. Un total de cerca de 43 704 000 personas con epilepsia son relatados de 108 países, cubriendo un 85.4% de la población mundial, donde el número medio de personas con epilepsia por 1000 habitantes es de 8.93% (SD 8.14, media 7.59) a partir de 105 países lo cual varía dependiendo de la región ⁽²¹⁾.

El número medio de personas con epilepsia por cada 1000 habitantes varía entre regiones:

- América 12,59 %
- África 11,29 %
- Sudeste de Asia 9,97 %
- Mediterráneo oriental 9,40 %
- Europa 8,23 %
- Pacífico occidental 3,66 %

El número medio de personas con epilepsia por 1000 habitantes varía de 7,99 % en los países de altos ingresos a 9,50 % en los países de bajos ingresos ⁽²¹⁾.

2.2.2 Crisis Convulsiva

Las crisis epilépticas son síntomas de disfunción cerebral que se producen por una descarga hipersincrónica o paroxística de un grupo de neuronas, localizadas en el córtex cerebral ⁽³⁷⁾.

Una crisis convulsiva puede durar de uno a dos minutos y pueden ser seguidas de un periodo variable de depresión cerebral, que se manifiesta por déficits neurológicos localizados (pérdida de fuerza en extremidades, alteraciones sensitivas, etc.) o difusos (somnia, cansancio, agitación, delirio, cefalea, etc.) ⁽³⁷⁾.

Las crisis epilépticas pueden ser reactivas cuando son consecuencia de una respuesta cerebral a un estrés transitorio como traumatismo craneoencefálico, fiebre, desequilibrios metabólicos, contacto con tóxicos, abstinencia o abuso de alcohol y/o drogas y lesiones permanentes cerebrales. En otras ocasiones se producirán como síntoma de un síndrome neurológico más amplio denominado síndrome epiléptico que entre sus múltiples manifestaciones neurológicas también producirá crisis epilépticas ⁽³⁷⁾.

2.2.3 Tipos de Crisis

A continuación describimos los tipos de crisis (Figura 6)

2.2.3.1. Crisis Parciales

Las crisis parciales son inicialmente divididas en dos grupos:

- No existe pérdida de conciencia.
- Disminución de conciencia.

En ambos grupos se pueden desencadenar crisis generalizadas (Anexo 1) ⁽²²⁾.

2.2.3.2. Crisis Parcial Simple

Es aquella crisis, durante la cual el paciente no pierde el conocimiento pero no puede controlar sus experiencias ni acciones. Estas acciones dependen de la región afectada del cerebro. La crisis se puede causar por emociones intensas, movimientos no controlados, o problemas de vista o habla (Anexo 1) ⁽²²⁾.

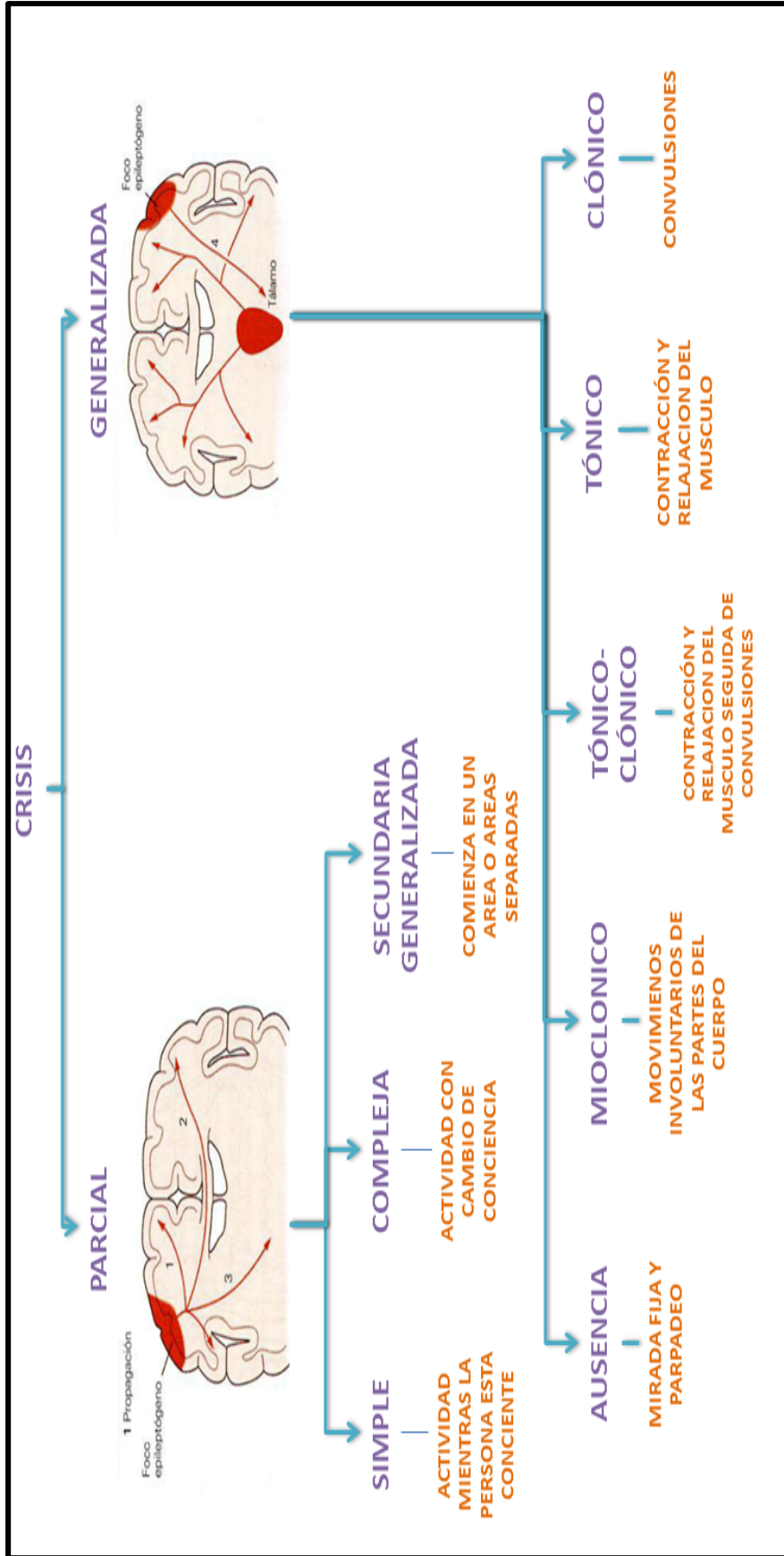
2.2.3.3. Crisis Parciales Complejas

Es aquella en la cual el paciente no es consciente de sus acciones y hace movimientos repetitivos e involuntarios, como el masticar sin razón, tragar saliva, tocarse la ropa, o rascarse. Las crisis pueden generalizarse, si el paciente pierde el conocimiento y tiene convulsiones mientras que la crisis parcial se extiende por otras partes del cerebro (Anexo 2) ⁽²²⁾.

2.2.3.4. Crisis Parcial Generalizada

Las crisis parciales generalizadas, son producidas por las crisis parciales simples o las crisis parciales complejas, ya que estas pueden tornarse generalizadas por producir convulsiones tónico-clónicas (Anexo 3) ⁽²²⁾.

Figura 6: Tipos de Crisis Convulsiva



FUENTE: Elaboración propia - Microsoft Power Point 2012

2.2.4 Causas de una Crisis

Una convulsión es un síntoma de una condición anormal. Es imprescindible establecer cuál es la causa, ya que algunas son comunes y algunas son muy raras. Las crisis convulsivas pueden ser determinadas por rayos X, tomografías computarizadas, y métodos de investigación modernos que pueden mostrar lesiones estructurales, mientras la química y las investigaciones serológicas muestran anomalías metabólicas y parasitarias. En zonas rurales, donde aún no se realizó ningún tipo de investigación, las causas de las crisis convulsivas siguen siendo desconocidas (22)

Algunas causas por las cuales se pueden producir crisis convulsivas:

1. METABÓLICAS

- Hipoglicemia
- Hipocalcemia
- Desbalance electrolítico
- Hiperbilirubinemia
- Dependencia de piridoxina
- Porfiria
- Hipomagneemia

2. INFECCIOSAS

- **INTRACRANEALES**
 - ✓ Meningitis
 - ✓ Encefalitis
 - ✓ Malaria cerebral
 - ✓ Toxoplasmosis
 - ✓ Cisticercosis
 - ✓ Encefalopatía

- **EXTRACRANEALES**

- ✓ Fiebre convulsiva
- ✓ Tétano
- ✓ Tos ferina
- ✓ Inmunización de la tos ferina

3. TRAUMAS

- Trauma de nacimiento
- Lesión causada por el frío en recién nacidos
- Lesión en la cabeza en el adulto
- Hipotermia

4. ANOXIAS

- Lesión perinatal
- Condiciones de vida

5. TOXICAS

- Consumo de alcohol o abstinencia
- Envenenamiento por monóxido de carbono
- Envenenamiento por órgano fosforado

6. OCUPANDO ESPACIO EN LAS LESIONES

- Hemorragia
- Tuberculoma
- Absceso
- Cisticercosis
- Tumor
- Toxoplasmosis

7. DISTURBIOS CIRCULATORIOS

- Accidente cerebro vascular (ACV)
- Crisis falciforme
- Anomalía vascular

8. DOLENCIAS DEGENERATIVAS

- Niemann pick
- Demencia
- Degeneración cerebro macular

9. EDEMA CEREBRAL

- Encefalopatía hipertensiva
- Eclampsia

10. CONGENITAS

- Hidrocefalia
- Microcefalia
- Esclerosis tuberosa
- Neurofibromatosis
- Síndrome de Sturge- Weber

2.3. EPILEPSIA DE LÓBULO TEMPORAL

La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) es la forma más común de epilepsia focal en adultos, que representa el 40% de todos los casos de epilepsia en esta población ⁽³⁸⁾.

La epilepsia de lóbulo temporal (ELT) incluye un grupo heterogéneo de trastornos que comparten el origen topográfico de las crisis epilépticas, fue definida por la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE) como un cuadro caracterizado por crisis parciales simples, crisis complejas con o sin

generalización secundaria originadas en la porción lateral del lóbulo temporal⁽³⁹⁾.

El sustrato fisiopatológico que la caracteriza es la esclerosis del hipocampo, que se distingue por la pérdida neuronal, gliosis y disminución del volumen del hipocampo y áreas vecinas como la amígdala, el giro parahipocámpico y la corteza entorrinal, lo cual ocasiona una atrofia y esclerosis del hilo del giro dentado y de las áreas CA1 y CA3 del hipocampo. También se produce una reorganización de las vías neuronales que favorecen la neoespinogénesis, la morfogénesis, la neosinaptogénesis y la neogénesis, con un desarrollo aberrante de células y fibras, las cuales constituyen a la formación de un foco cuyo componente neuronal muestra un significativo aumento en la excitabilidad⁽⁴⁰⁾.

La epileptogénesis evoluciona en el tiempo y muestra que la reorganización dinámica de las vías neuronales establece una red neuronal con cambios funcionales y anatómicos muy significativos. Más recientemente, la ELT se dividió en lado mesial y neocortical, según el origen y la semiología de las crisis. En su etiología se clasifica como familiar, o probablemente sintomática⁽⁴¹⁾.

La epilepsia lóbulo temporal mesial (ELTM), corresponde a aproximadamente el 60% de los casos de ELT⁽⁴¹⁾. La importancia clínica de ELTM es debido a su alta prevalencia, por la elevada proporción de pacientes con convulsiones que no responden al tratamiento medicamentoso⁽⁴²⁾.

En la ELTM la pérdida neuronal en un 30% o más, es frecuentemente reemplazada por células gliales que forman gliosis y disminuyen el volumen del hipocampo y de otras estructuras vecinas (amígdala, giro parahipocámpico y corteza entorrinal), lo que ocasiona atrofia y esclerosis principalmente en el hilo del giro dentado (GD) y en las áreas CA1 y CA3 del hipocampo, también

se establece una reorganización de las vías neuronales y la formación de un foco epileptógeno ⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾.

El hipocampo con actividad convulsiva es una región encefálica disfuncional. Los cambios en la morfología, electrofisiología, bioquímica, neurotransmisores y regulación de genes ocurren en las células que sobreviven, las cuales son responsables de las crisis en la ELT y coadyuvan a la epileptogénesis. ⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾.

2.4. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DEL LÓBULO TEMPORAL

El lóbulo temporal configura la porción latero basal del hemisferio. En el principio del desarrollo embrionario el hemisferio es una vesícula ovoidea, en cuya cavidad se configura el sistema ventricular. A partir del tercer mes se hace aparente una incurvación hacia delante de la vesícula y en su parte inferior se moldea el lóbulo temporal (Figura 11). En su crecimiento el lóbulo arrastra consigo las estructuras que inicialmente forman la pared y la cavidad de la vesícula. ⁽⁴⁷⁾.

La cavidad continúa hacia adelante como la prolongación temporal del ventrículo con su tela coroidea y sus plexos coroides. En la porción medial de la vesícula inicial hay una diferencia temprana de la corteza: El *archicortéx*, que al definirse el lóbulo temporal queda localizada en su parte medial y configura el *hipocampo*. Desde sus primeras etapas hay fibras que pasan del *archicortéx* hasta el cuerpo mamilar, pero con la nueva localización del *archicortéx* estas fibras siguen un largo recorrido arciforme (Anexo 4) ⁽⁴⁷⁾.

Otras estructuras que siguen este movimiento morfogenético, son el *núcleo caudado* cuya cola se encuentra en el techo de la prolongación del ventrículo y la *estría terminalis* que, originada en el núcleo amigdalóide, sigue el mismo recorrido que la cola del núcleo caudado (Anexo 5) ⁽⁴⁷⁾.

Se distinguen entonces en el lóbulo temporal dos porciones netamente diferenciables por su origen, su citoarquitectura y sus funciones: en su porción medial se encuentra el hipocampo formado por estructuras derivadas del archicortéx, mientras que en su porción latero-basal está formada por una extensa área de corteza nueva, *neocortex*, que se continúa con la corteza de lóbulos parietal, occipital e insular ⁽⁴⁷⁾.

2.5. FORMACIÓN DEL HIPOCAMPO

En la cara media del lóbulo temporal se aprecia una profunda fisura, la *fisura colateral*, que marca su relieve en el piso de la prolongación temporal del ventrículo; por encima de ésta, hay otra fisura que separa al lóbulo temporal del resto del hemisferio, es la *fisura del hipocampo*; entre ambas fisuras se localiza la formación del hipocampo que consta del *giro del hipocampo* o *giro hipocampal*, *asta de Amón* y el *giro dentado* (Anexo 6) ⁽⁴⁷⁾.

Estas estructuras que recorren el borde superior y medial del lóbulo temporal, desde el uncus hasta el esplenio del cuerpo calloso alcanzan una longitud de unos 4,5 cm. Adosada a la parte medial del asta de Amón se encuentra un haz de fibras, la *fimbria*, que en su parte posterior se desprende de aquella y se sitúa debajo del *esplenio* del cuerpo calloso, se dirige hacia adelante y junto con la homóloga del lado opuesto forman el cuerpo fornix, el cual queda unido a la cara inferior del cuerpo calloso por el *septum pelliucidum* ⁽⁴⁷⁾.

2.6. MIGRACIÓN DE NEURONAS EN LA EPILEPSIA

El proceso que permite que las neuronas recién nacidas alcancen su posición definitiva en el cerebro se denomina migración neuronal, y su alteración se traduce en la formación de un cerebro en la que las neuronas son incapaces de conectarse adecuadamente, dando lugar a importantes trastornos neurológicos. Las alteraciones en la migración neuronal pueden producir importantes malformaciones en el cerebro, y en humanos están relacionadas con el retraso

mental y la epilepsia en los casos más graves. Se piensa también que defectos más sutiles de la migración neuronal pueden producir cambios importantes en la organización del cerebro ⁽⁴⁸⁾.

Las alteraciones de la migración neuronal (AMN), a pesar de haber sido ya descritas por patólogos alemanes a mediados del siglo XIX, por Ramón y Cajal a principios de siglo XX, han despertado gran interés entre los neurólogos responsables de las unidades de epilepsia en los últimos años, ya que con las nuevas técnicas de neuroimagen han dejado de ser un hallazgo *postmortem* y se diagnostican cada vez con mayor frecuencia ⁽⁴⁹⁾.

Según trabajos realizados, se puede evidenciar que durante la epilepsia hay una clara migración anormal de las neuronas. El primer análisis del tejido epiléptico usando métodos neurocitológicos fue realizado por Sommer y Pflieger en 1880, usando preparaciones de Nissl de cerebros de pacientes epilépticos y describieron una pérdida neuronal en el hipocampo. Se describió además dicha pérdida en la zona específica del hipocampo en el área CA1 (Anexo 7) ⁽⁵⁰⁾.

2.7. SISTEMA CANNABINOIDE

2.7.1. Descripción

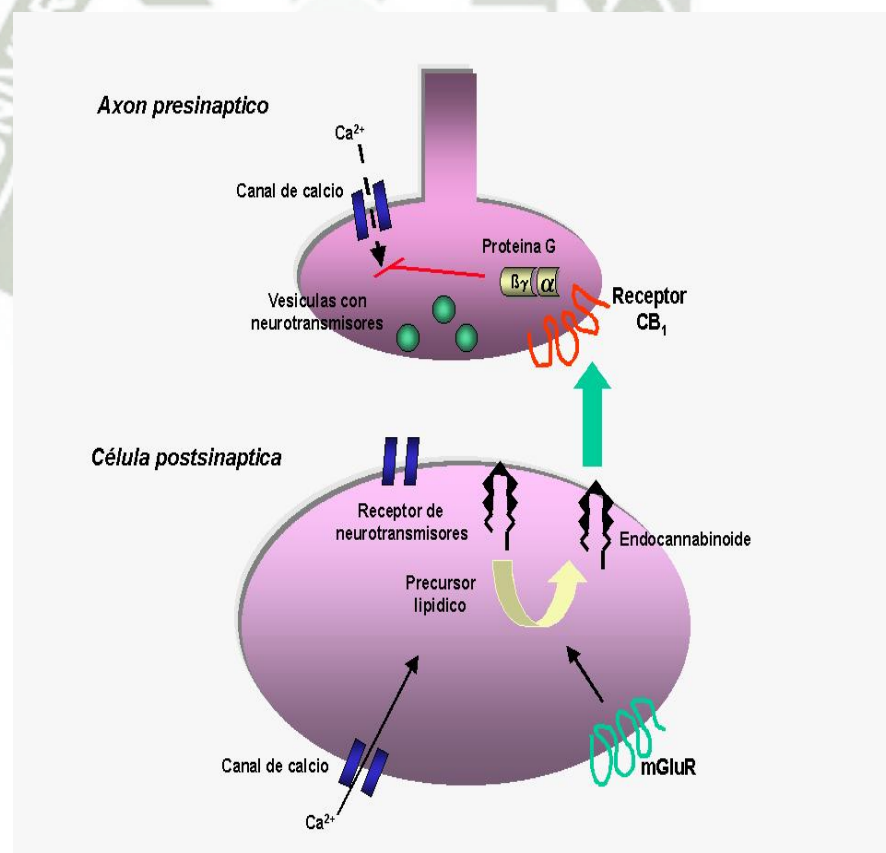
El sistema endocannabinoide, se encuentra distribuido en todo el sistema nervioso central. Y está compuesto de receptores cannabinoideos y los endocannabinoideos que interactúan del mismo modo que lo hace una cerradura y su llave. Los endocannabinoideos son receptores y sistemas específicos de síntesis, metabolización, degradación y transporte, y su función es la de cumplir un mecanismo neuromodulador en el Sistema Nervioso Central ⁽⁵¹⁾.

Así, cuando se ocupan y activan receptores de neurotransmisores en la membrana plasmática de una neurona postsináptica, ésta sintetiza precursores

de endocannabinoides y los escinde para liberar a la hendidura sináptica endocannabinoides funcionalmente activos. Esto acontece, por ejemplo, tras la unión de algunos neurotransmisores como el glutamato a sus receptores ionotrópicos o metabotrópicos ⁽⁵²⁾.

Los endocannabinoides actúan como mensajeros químicos retrógrados uniéndose a receptores CB₁ presinápticos que median la inhibición de entrada de Ca⁺² (cierre de canales de Ca⁺²) y facilitan la salida de K⁺ (apertura de canales de k⁺), lo que dificulta la despolarización de la membrana y procesos de exocitosis, bloqueando la liberación de neurotransmisores como glutamato, GABA o acetil colina, lo que afecta procesos de aprendizaje, movimiento y memoria (Figura 7) ⁽⁵²⁾.

Figura 7: Modelo de señalización por endocannabinoides a través de receptores CB₁



FUENTE: Universidad Complutense de Madrid ⁽⁵³⁾

2.7.2. Receptores cannabinoides

Los dos principales receptores que componen el sistema endocannabinoide, son los receptores cannabinoides CB1 y CB2. Los receptores CB1, son los receptores metabotrópicos que se encuentran con mayor abundancia en el cerebro y su distribución ha sido ampliamente caracterizada en humanos. Los receptores CB1 se expresan de forma elevada en el hipocampo, los ganglios basales, el córtex y el cerebelo ⁽⁵¹⁾.

Los receptores CB1 se expresan también en varios órganos periféricos; por lo tanto, están presentes en los adipocitos, el hígado, los pulmones, la musculatura lisa, el tracto gastrointestinal, las células pancreáticas β , el endotelio vascular, los órganos reproductivos, el sistema inmunológico, los nervios periféricos sensoriales y en los nervios simpáticos ⁽⁵¹⁾.

La distribución de los receptores CB2 es bastante distinta y principalmente restringida a la periferia, en las células del sistema inmunitario como por ejemplo los macrófagos, neutrófilos, monocitos, linfocitos B, linfocitos T y células microgliales. Recientemente se demostró también la presencia del receptor CB2 en las fibras nerviosas de la piel y en los queratinocitos, en las células óseas como los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos, en las células hepáticas y en las secretoras de somatostatina del páncreas. La presencia de receptores CB2 también se ha demostrado en el sistema nervioso central (SNC), en los astrocitos, en las células microgliales y en las neuronas del tallo cerebral (Anexo 8 y 9) ⁽⁵¹⁾.

2.7.3. Los endocannabinoides

Tras la identificación de los receptores cannabinoides, se descubrieron los ligandos endógenos para los mismos, conocidos como endocannabinoides. En el cerebro actúan como neuromoduladores. Todos los endocannabinoides son derivados de ácidos grasos poli-insaturados, lo que los diferencia en estructura química de los fitocannabinoides de la planta de cannabis ⁽⁵⁴⁾.

Entre los endocannabinoides identificados hasta ahora se encuentran: la anandamida, N-araquidonil-etanolamida (AEA), el 2-araquidonil-glicerol (2-AG), el éter del 2-araquidonil-glicerol (éter de noladín), el O-araquidoniletanolamina (virodhamina), y la N-araquidonil-dopamina (NADA).⁽⁵⁴⁾.

Los primeros dos endocannabinoides descubiertos, la anandamida y el 2-AG, han sido los más estudiados. A diferencia de otras señales químicas del cerebro, no se van sintetizando y almacenando en las células nerviosas sino que son generadas a partir de sus precursores y liberadas “a demanda” (solo cuando es necesario). Una vez ocurrida su liberación, los endocannabinoides son rápidamente desactivados mediante recaptación celular y metabolización. El metabolismo de la anandamida y del 2-AG ocurre principalmente por hidrólisis enzimática por parte de la amido-hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y de la monoacilglicerol-lipasa (sólo en el caso del 2-AG).⁽⁵⁴⁾.

2.7.4. Como funciona específicamente los endocannabinoides

Los neurotransmisores clásicos, tales como la acetilcolina, aminoácidos (glutamato, GABA) o monoaminas (dopamina, serotonina) deben cumplir los siguientes criterios:

1. Los transmisores se sintetizan en las terminales presinápticas de precursores específicos y almacenados en vesículas sinápticas.
2. Que son liberados en la hendidura sináptica después de una afluencia de calcio.
3. Existen mecanismos específicos para finalizar sus acciones, incluida la captación y degradación enzimática.

Estos criterios hacen de los endocannabinoides mensajeros atípicos que median la transferencia de información desde los terminales presinápticos para publicar de forma retrógrada; que los endocannabinoides se sintetizan

por la demanda y no se almacena en vesículas. La síntesis se produce en las neuronas postsinápticas después de la entrada de calcio y la posterior activación de fosfolipasas (fosfolipasa D en el caso de la anandamida y lipasa diaciglicerol en el caso de 2-AG), que convierten los fosfolípidos en endocannabinoides. Estos parecen alcanzar inmediatamente la hendidura sináptica por medio de la difusión y el apareamiento libre o asistido de un pre-receptor CB1 sináptico ⁽⁵⁵⁾.

La unión de los endocannabinoides a su receptor CB1 conlleva a la inhibición de adenil ciclasa, disminución de los niveles de AMPc, apertura de canales de K^+ , hiperpolarización celular y cierre de canales de Ca^{++} , impidiendo su entrada a la célula ⁽⁵⁶⁾.

Como consecuencia, el efecto neto de la activación del receptor CB1 por los endocannabinoides, es la menor generación de potenciales de acción en la neurona presináptica, inducida por un mediador liberado por la neurona postsináptica. Así mismo, la menor disposición de Ca^{++} intracelular evitará la liberación de neurotransmisores en la neurona presináptica. De esta manera, la activación del receptor CB1 por los endocannabinoides causa un efecto presináptico inhibitorio ⁽⁵⁶⁾.

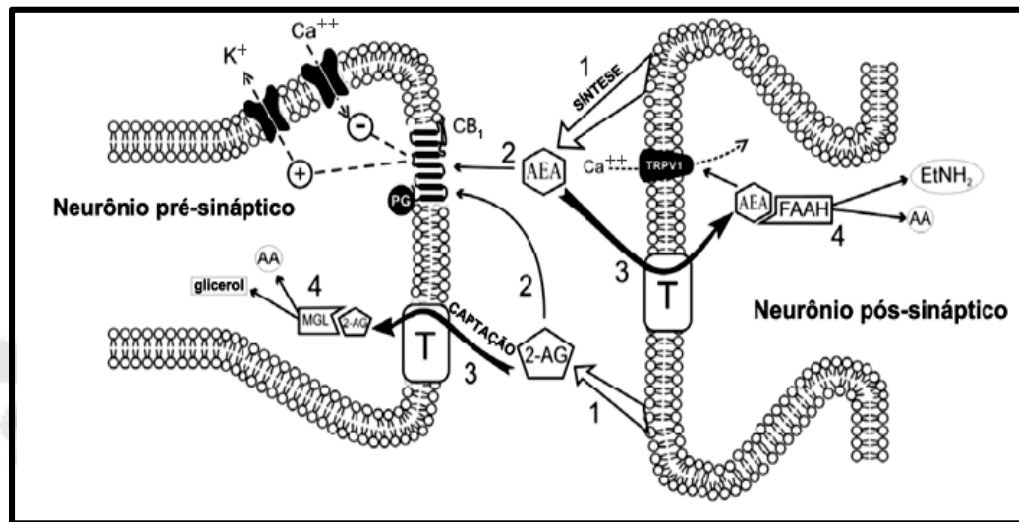
2.7.5. Degradación de los endocannabinoides

Como en el caso de los neurotransmisores clásicos, las acciones de los endocannabinoides están limitadas por un proceso de dos pasos: la internalización, seguido por catabolismo. El primer paso es incierto, ya que existe un debate acerca de, si la internalización de los endocannabinoides es la que se produce por difusión pasiva o por algún transporte específico. Después de la internalización, los endocannabinoides experimentan una hidrólisis enzimática ⁽⁵⁵⁾.

Las principales enzimas responsables de la hidrólisis de la anandamida y 2-AG, son la hidrolasa de amida de ácidos grasos (FAAH) y el monoacilglicerol

lipasa (MGL), respectivamente. Es intrigante que los dos endocannabinoides se degradan tanto de una manera presináptica (2-AG) como postsináptico (anandamida) (Figura 8) ⁽⁵⁵⁾.

Figura 8: Distribución de los receptores endocannabinoides en el cuerpo



FUENTE: Viviane M., Saito et al., 2010 ⁽⁵⁵⁾

Los endocannabinoides son sintetizados y liberados en la membrana de las neuronas post-sinápticas, siguiendo la demanda después de la salida de calcio. Ellos activan los receptores pre-sinápticos CB₁ y restringen la actividad neuronal. La Anandamida y el 2-AG son removidas de la rienda sináptica por la captación en la pre y post- sinapsis respectivamente. Una vez dentro de las neuronas, la anandamida se acopla al TRPV1 (como consecuencia opuesta a la activación del CB₁) y pasa por hidrólisis por la FAAH, al tiempo que la 2-AG es hidrolizada por la MGL ⁽⁵⁵⁾.

2.7.6. Estudios del sistema endocannabinoide en epilepsia

El modelo de la pilocarpina en ratas utilizando muestras del Delta9-tetrahydrocannabinol, así como el canabimimético, lograron eliminar completamente ataques epilépticos espontáneos, se determinó que los niveles endógenos de CB₁ ligando y 2-araquidoniglicerol aumentaron

significativamente dentro de la región del hipocampo del cerebro, estos datos muestran no sólo la actividad anticonvulsiva de los cannabinoides aplicados exógenamente, pero también sugieren que el tono cannabinoide endógeno modula la terminación de convulsión y la duración a través de la activación del receptor CB1 ⁽⁵⁷⁾.

Se demostró que el sistema endocannabinoide endógeno cumple un papel en la regulación de la actividad convulsiva, estos estudios definen una función para el sistema cannabinoide endógeno en neuroexcitación, modulación y sugieren que la plasticidad de los receptores CB1 que se produce con la epilepsia ⁽⁵⁷⁾.

El sistema endocannabinoide controla estrechamente la excitabilidad neuronal. Muestra que los endocannabinoides, son objetivo directo del hipocampo en neuronas glutamatérgicas para proporcionar protección contra las convulsiones epileptiformes agudas en ratones. Los receptores cannabinoides CB1 están presentes en los terminales glutamatérgicos de la formación del hipocampo. Los endocannabinoides proporcionan control de la neurotransmisión glutamatérgica en el hipocampo y esto puede constituir un objetivo terapéutico para trastornos asociados con la excesiva actividad neuronal ⁽⁵⁸⁾.

El sistema endocannabinoide juega un papel central en la comunicación sináptica retrograda y puede controlar la propagación de la actividad epiléptica, utilizando el modelo de la pilocarpina inducido en ratas, se demostró que en animales fuertes, en la fase aguda se obtuvo una reducción masiva de CB1-R- tenidas en el hipocampo ⁽²⁰⁾.

2.8. MODELO EXPERIMENTAL DE LA PILOCARPINA

Los modelos experimentales de epilepsia juegan un papel muy importante en el avance del entendimiento del proceso epileptogénico y con esto contribuyen al desarrollo de nuevos fármacos antiepilépticos, con objetivos terapéuticos más específicos ⁽⁵⁹⁾.

En el modelo de ELT provocado por la inyección de una sola dosis de pilocarpina (300-380 mg/kg), se induce una *fase aguda* de estado epiléptico (EE) caracterizado por crisis tónico-clónicas de origen límbico que requiere la interrupción farmacológica con diazepam para disminuir la mortalidad ^{(25) (60)}.

Superada la fase aguda, los animales desarrollan un período libre de crisis denominada *fase latente*, que es seguida de la aparición brusca de crisis recurrentes espontáneas o *fase crónica*, semanas más tarde ^{(25) (60)}.

En este modelo la estructura encefálica más estudiada es el hipocampo y juega un papel importante en la epileptogénesis ^{(25) (60)}.

Se ha observado que conforme evoluciona el proceso, una vez superado el EE, se establece una reorganización dinámica de las vías glutamatérgicas, gabaérgicas y de otros neuromoduladores que favorecen la neoespinogénesis, morfogénesis, neosinaptogénesis y neurogénesis, con desarrollo aberrante de los axones de las células granulares (CG) o fibras musgosas del giro dentado (GD) ⁽⁶¹⁾.

Estos hallazgos plantean la posibilidad de que las nuevas sinapsis que se establecen entre las fibras musgosas y las dendritas basales hilares de las CG ectópicas puedan contribuir a un circuito excitatorio recurrente de las CG y predisponen al animal a presentar crisis. ⁽⁶¹⁾.

Las alteraciones mejor caracterizadas en la ELT, tanto en humanos como en modelos animales, son los cambios que presentan las CG del GD. Sin embargo las modificaciones en otros componentes de los circuitos hipocampales están escasamente analizadas y también forman parte importante de los cambios que sufre el hipocampo y otras estructuras encefálicas durante el proceso de la epileptogénesis ⁽⁶¹⁾.

2.9. APLICACIÓN SISTÉMICA DE LA PILOCARPINA PARA LA INDUCCIÓN DE EPILEPSIA

El protocolo empleado para la inducción de epilepsia en ratas fue el mismo descrito por Turski e colaboradores en 1983. Una breve descripción de la metodología del modelo revela que una dosis única de Pilocarpina (300 – 380 mg/kg, ip.) produce en las ratas una secuencia de alteraciones comportamentales de origen límbico, donde los animales permanecen inmóviles y con las orejas levantadas, aumentando automatismos faciales, movimientos masticatorios y de vibrisas, “*wet dog shakes*”, movimientos de cabeza y movimientos atáxicos. Después de 15 – 20 minutos, aparecen crisis convulsivas motoras límbicas, tónicas, clónicas o tónico-clónicas, caracterizadas por intensos movimientos masticatorios, salivación, clonias de patas y caídas, que se repiten cada 5 – 15 minutos. Generalmente cuando el animal tiene de dos a tres de estas crisis, pasa para un estado de crisis continuas (clónicas) que caracterizan el *status epilepticus* (SE).

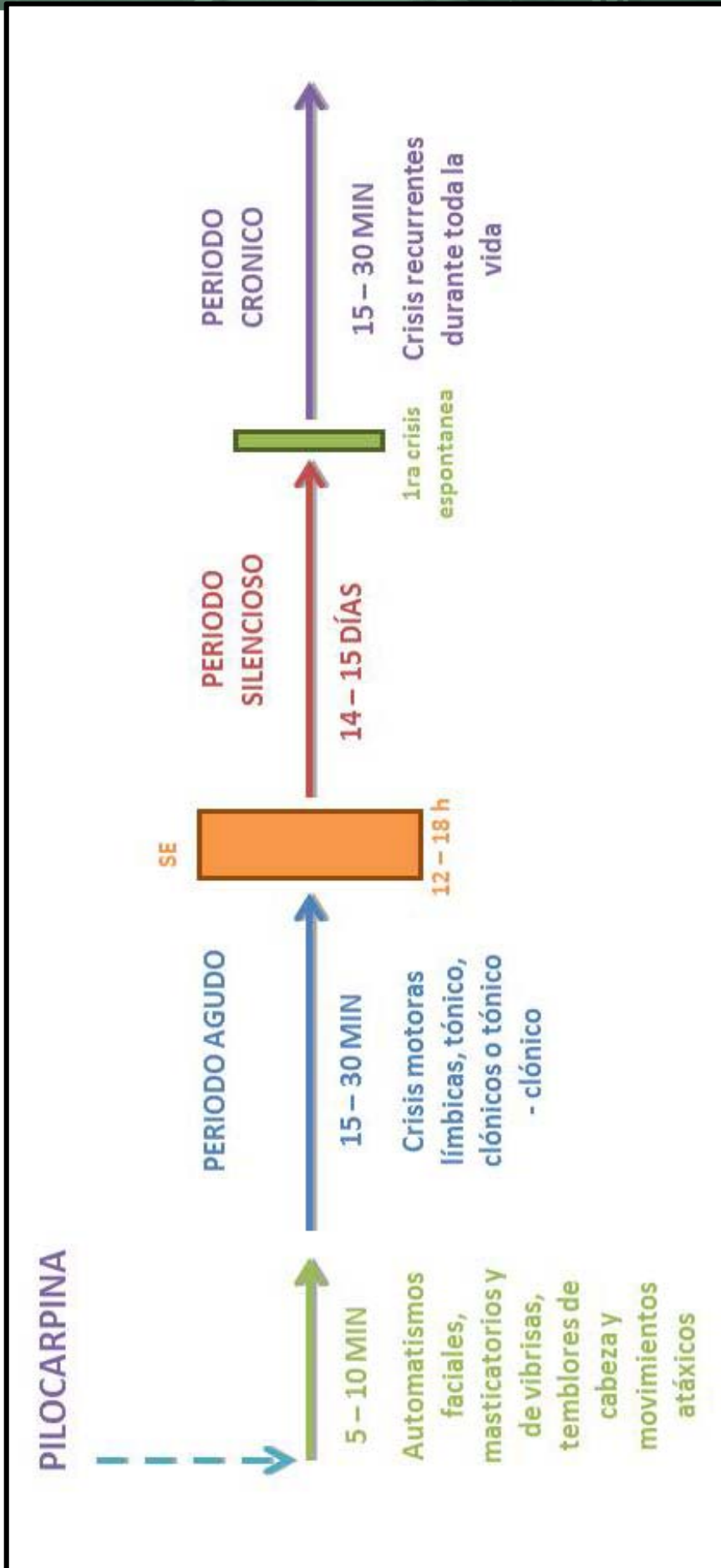
El SE es auto-sustentado por un período de hasta 12 horas, después los animales quedan comatosos, saliendo del cuadro de crisis convulsivas, que con un análisis de electro encefalograma (EEG) no revelara más anomalías. Ese periodo no sintomático es denominado “período silencioso”, donde los animales comienzan a presentar crisis epilépticas espontaneas y recurrentes (2 a 15 por mes), que persiste por el resto de la vida.

El *status epilepticus* fue obtenido por la administración intraperitoneal de Cloridrato de Pilocarpina (350mg/kg, ip en ratas). La droga fue disuelta en una solución salina 0,9%, a una concentración de 40 mg/ml.

Para la inducción del SE con Pilocarpina los animales sufrirán un pre-tratamiento subcutáneo con Metil-escopolamina 30 min. antes de la aplicación de Pilocarpina, en dosis de 1 mg/kg de peso y concentración de 0.4 mg/ml en solución salina 0,9%. El uso de la Metil-escopolamina tiene como objetivo disminuir los efectos colinérgicos periféricos provocados por la administración de la Pilocarpina (Figura 9).



Figura 9: Modelo Experimental de la Pilocarpina



FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Power Point 2012



CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos experimentales descritos en este trabajo fueron realizados de acuerdo con las normas del Comité de Ética del Centro de Experimentación y Entrenamiento en Cirugía del Hospital Israelita Albert Einstein, Sao Paulo Brasil.

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

El estudio fue desarrollado en el Núcleo de Imagen Pré-Clínica del Centro de experimentación y entrenamiento en cirugía (CETEC), el cual está constituido por tres laboratorios de investigación localizados en el campus del Instituto Israelita de Enseñanza e investigación Albert Einstein (IIEPAE), Sao Paulo Brasil.

El centro de experimentación y entrenamiento en cirugía está dividido, en salas quirúrgicas, sala de radiología intervencionista, laboratorio de patología experimental e histología y biotério para animales (pequeños y medianos).

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El estudio fue realizado con 23 ratas (WISTAR), divididas en 4 grupos experimentales, descritos a continuación (Tabla 8):

Tabla 8: Tipo de tratamiento utilizado

NOMINA	N° GRUPO	N° ANIMALES	TIPO DE TRATAMIENTO	DOSIS	VÍA DE ADMINISTRACIÓN
CONTROL SANO	0	6	Ninguno	Ninguno	Ninguno
CONTROL	I	5	Solución solvente	3 mg/kg	Cánula Orogástrica
DOSIS 1 MG /KG	II	6	Extracto pentánico de Maca	1 mg /kg de peso	Cánula Orogástrica
DOSIS 5 MG/KG	III	6	Extracto pentánico de Maca	5 mg/kg de peso	Cánula Orogástrica

FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010

3.3. MATERIALES

3.3.1. Material biológico

3.3.1.1. *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

La *Lepidium Peruvianum Chacón sp.* (MACA) como fruto, fue recolectada en el departamento de Junín, provincia Yanacocha, ubicada a 4850 m.s.n.m.

3.3.1.2. Animales de experimentación

Fueron utilizados 46 roedores machos, de la raza WISTAR de 3 meses de edad, con pesos entre 280 gr a 350 gr, los cuales fueron obtenidos y criados en el biotério del CETEC

3.3.2. Sustancias químicas utilizadas

Las drogas y reactantes utilizados en este estudio fueron: pilocarpina, sacarosa, clorato de sodio, hidróxido de sodio, fosfato de sodio mono-hidratado, fosfato de sodio di-hidratado, todos estos obtenidos de la MERCK S.A Industrias Químicas. La metil-escopolamina (sigma chemical corporation, São Paulo, Brasil) fue obtenida de SIGMA CHEMICAL Co, otras drogas utilizadas fueron, ketamina, xilacina, diazepam y heparina. En cuanto a los solventes como el Metanol fueron obtenidos de la MERCK S.A Industrias Químicas, el n – pentano fue obtenido de Sigma Aldrich, el alcohol absoluto, xilol e paraformaldeído fueron obtenidos de Labsynth productos para Laboratorios Ltda.

3.3.3. Equipos utilizados

Los equipamientos utilizados para la realización de este estudio fueron: agitador magnético, balanza analítica Mettler (Toledo PB303-S), pHmetro de la marca (Phamacia), sistema de cámaras de vídeo Panasonic, bomba de perfusión Masterflex L/S Cole Parmer, criostato Microm HM505E, microscopio óptico Carl Zeiss modelo J/90223, el software Steroinvestigator MBF (OPTICAL FACTONIATOR). También fueron utilizados sistemas de extracción como Soxhlet, sistema de extracción continúa líquido – líquido y sistema rotavaporación.

3.4. MÉTODOS

3.4.1 Obtención del extracto pentánico

3.4.1.1. Obtención de la harina de Maca

La *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) como fruto, paso por un proceso de picado y secado en un ambiente limpio, con poca luz para evitar la degradación del producto, una vez seco paso por un proceso de molienda para la obtención de harina de Maca. Posteriormente fue almacenada en bolsas de papel para evitar el contacto con la luz.

3.4.1.2. Extracción metanólica

Primeramente fue realizada una extracción metanólica por el método de extracción por soxhlet, consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado en un cartucho de papel filtro, el cual se introduce en la cámara de extracción, seguidamente es conectado a un refrigerante y a un balón con disolvente, que será sometido a ebullición. El vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón.

Se realizó este proceso la cantidad de veces necesaria hasta que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando, en este proceso acoplamos un sistema de frío para mantener el reflujo siempre a una temperatura determinada.

3.4.1.3. Método de rotavaporación

El Rotavapor consta de un tubo de refrigeración de serpentín, una bomba, una cubeta para el baño y un brazo para introducir o sacar del baño María de la muestra a concentrar. Consiste en la concentración de la muestra que al

ser introducida en baño María, determinando la temperatura y la presión del sistema en función al solvente con el que ha sido extraído, este se evapora al ponerse en contacto con el refrigerante, condensándose y de esta manera se recupera el disolvente.

La rotavaporación facilita una mejor distribución del calor, debiendo regular la temperatura y la presión de acuerdo al solvente empleado, el brazo móvil permite sacar e introducir la muestra del baño María para comprobar el volumen de la muestra a concentrar.

3.4.1.4. Extracción continua líquido – líquido

Es un método de separación indirecta el cual aprovecha la solubilidad preferencial de una sustancia con un solvente. Este método se utiliza si la volatilidad relativa es cercana a la unidad. Permite la separación de un componente de una mezcla líquida con ayuda de un solvente que preferentemente lo disuelve.

3.4.2 Análisis del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.*(MACA)

El análisis de la cantidad de macamidas obtenidas en el extracto pentánico de *Lepidium Peruvianum Chacón sp.* (MACA), fue realizado por Dr. Mark Bohlke, Alejandro Pino Figueroa, PhD y Timothy Maher, PhD; en el Massachusetts College of Pharmacy and Health Sciences of Boston, por medio de un HPLC-MS.

3.4.3 Ambientación y alimentación de los animales

Los animales fueron ambientados en el biotério del centro de experimentación del CETEC, en un área totalmente limpia y estéril en condiciones específicas para la ambientación de los animales. El biotério siempre se mantuvo en condiciones controladas con un ciclo claro-oscuro de 12 horas (7-19h), a una temperatura constante entre 21 ± 1 °C.

Los animales utilizados fueron colocados en jaulas individuales. Cada jaula presenta un sistema de agua especial, la cual fue cambiada cada día, en cuanto a la alimentación recibieron un alimento totalmente balanceado y esterilizado para evitar cualquier tipo de contaminación (Anexo 10)

3.4.4 Preparación de las dosis del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.*(MACA)

La preparación de las dosis de Maca, se realizó de la siguiente manera:

- En un tubo de ensayo limpio y seco, pesamos una cantidad del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA).
- Seguidamente pesamos polivinilpirrolidona (PVP), 6 veces más de la cantidad pesada del extracto pentánico.
- Posteriormente al tubo de ensayo con la muestra se le añadió el PVP.
- Luego fueron diluidos con 2 a 3 ml de metanol.
- Seguidamente el tubo de ensayo, fue colocado en baño María para la evaporación del metanol.
- Finalmente reconstituimos con suero fisiológico 0.9%.

En este estudio utilizamos dos dosis de extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA): 1 mg/kg de peso y 5 mg/kg de peso. Seguidamente detallamos el cálculo para una dosis de 5 mg/kg de peso del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) (Figura 10).

Figura 10: Cálculo diario para la preparación de una dosis por animal de experimentación

$$\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg de peso}} \right) \times \text{Peso Animal} \times \text{Cc de Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)$$

$$5 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 0.3 \text{ kg} \times 0.7 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} = 2.14 \text{ ml}$$

3.4.5 Seguimiento de la evaluación de los grupos experimentales

Los animales sometidos al modelo de pilocarpina (350mg/kg de peso), fueron llevados a una sala especial, después de su recuperación del SE, ósea a las 48 h., fueron colocados en jaulas individuales, mantenidas en condiciones controladas con un ciclo claro-oscuro de 12 horas (7-19h), con una temperatura ambiente constante entre 21 ± 1 °C, con libre acceso a agua y comida.

Estos animales fueron video-monitoreados por 24 h/día, durante los 31 días siguientes al inicio de la fase crónica, donde se controló la frecuencia de crisis por cada animal (Anexo 11). Tiempo durante el cual recibieron dosis de extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA).

3.4.5.1. Parámetros analizados para el seguimiento de la evaluación de los grupos experimentales

- Período de latencia para el *Status Epilepticus* (SE).
- Mortalidad después del Status Epiléptico.
- Frecuencia de crisis en el periodo crónico.

3.4.6 Análisis histológico

3.4.6.1. Perfusión intra – aórtica

Para la perfusión, los animales fueron anestesiados con Ketamina-Xilacina (0.15 ml/0.35 ml) vía intraperitoneal (ip). Se colocó al animal en posición dorsal, sobre una base. Posteriormente se procedió a la abertura de la caja torácica, dejando a exposición el corazón del animal.

Inyectamos a través del ventrículo izquierdo 0.05 ml de heparina para evitar la formación de coágulos. Con ayuda de una aguja, fue hecha una punción a través del ventrículo izquierdo hasta la aorta, para la infusión con buffer fosfato (PBS) a un pH de 7.4 y p- formaldehído a un pH de 7.4.

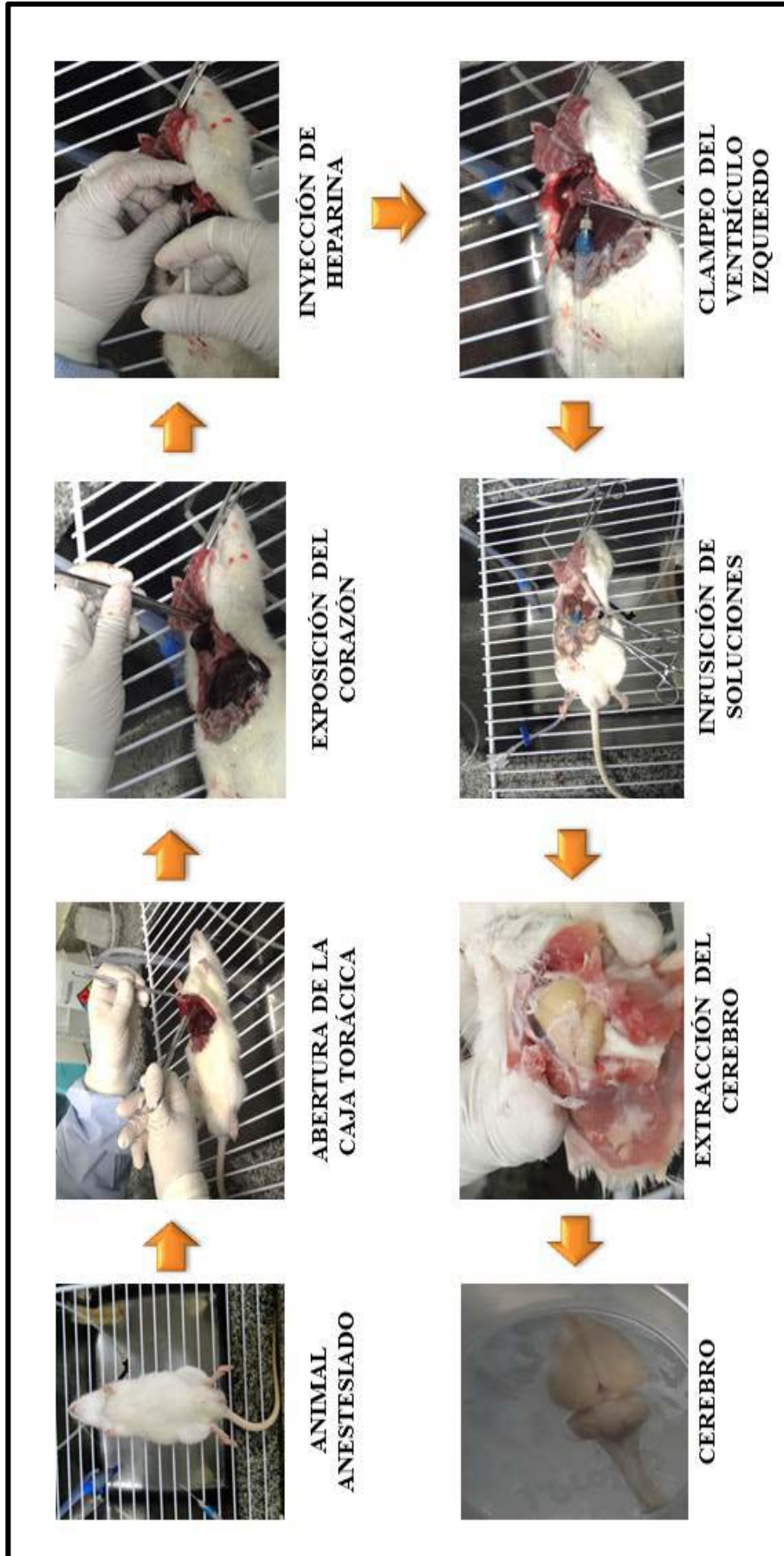
Seguidamente clampleamos el ventrículo izquierdo con una pinza Kelly, luego cortamos el atrio con el fin de permitir la salida del líquido contenido en la corriente sanguínea.

Finalmente clampleamos la aorta abdominal para evitar el endurecimiento de las extremidades inferiores.

Posteriormente extrajimos los cerebros cuidadosamente colocándolos en una solución de p- formaldehído a pH de 7.4 por 3 a 4 días, seguidamente cambiamos a una solución de sacarosa al 30% por 3 a 4 días, esta solución nos va ayudar fijar el cerebro (Figura 11)

Seguidamente los cerebros fueron cortados en el Criostato (-19°C), obteniendo laminas coronarias de 60µm de espesura, fueron montadas en láminas gelatinizadas, después secaron a temperatura ambiente por 2 días, finalmente fueron sometidas a la técnica de coloración de Nissl que permite determinar la densidad celular

Figura 11: Pasos de la Perfusión intra – aórtica



FUENTE: CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

3.4.6.2. Gelatinización de laminas

- Limpiamos las láminas con alcohol al 70% y las dejamos secar mínimo 24 horas.
- Colocamos las láminas en un soporte adecuado para llevarlas a la estufa, para así asegurar que estén bien secas.
- Preparamos la solución de gelatinización para 200 ml de solución, que es suficiente para gelatinizar de 150 a 200 láminas.

✓ Gelatina incolora en polvo	2.0 gr.
✓ Sulfochromo	0.2 gr.
✓ H ₂ O destilada	200 ml
- Remojamos las láminas rápidamente 3 veces en la solución, dejando escurrir en posición vertical de 1 a 2 minutos.
- Repetimos el procedimiento de 2 a 3 veces por lámina.

3.4.6.3. Método de Nissl

El cresil violeta es un colorante básico utilizado para evidenciar el citoplasma de las neuronas. El citoplasma contiene varias estructuras, inclusive corpúsculos de Nissl (o sustancia de Nissl) que son compuesto básicamente por RNA.

Esta coloración sirve como indicador de la viabilidad neuronal, pues en la lesión neuronal estos corpúsculos pueden desaparecer siendo ese fenómeno conocido como “cromatolisis”.

Las láminas fueron coloreadas con Cresil violeta (técnica de Nissl), que consiste en la hidratación de los cortes en bazos sucesivos de alcohol en concentración decreciente, seguida de una inmersión en solución de Crisol Violeta (0.5%) disuelto en solución de acetato tamponado a pH 3.8.

Inmediatamente después, los cortes fueron deshidratados en diferentes concentraciones de alcohol, aclarados con Xilol y montados con una lámina.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para certificar que las variables en estudio presentaran una distribución normal y significativa, se realizó un estudio estadístico con el programa estadístico IBM SPSS 19, donde primeramente realizamos una prueba de variación de frecuencias con respecto al análisis de pesos en diferentes etapas del estudio, seguida de una Prueba t de Student con respecto a la frecuencia de crisis por cada grupo experimental para determinar si existe significancia en el estudio, y para la confirmación de esta se recurrió a una prueba estadística paramétrica ANOVA, donde realizamos estudios múltiples comparativos con Tukey, Tukey b y Duncan.

Para describir las variables en función de los grupos fueron calculadas las medias y desviaciones estándar. Para la mejor descripción de los datos se realizaron gráficos representativos de cada uno de los análisis realizados en EXCEL.

3.5.1. Evaluación de la cantidad de macamidas obtenidas en el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

Una vez obtenido el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), se tomó 1 gr. extracto, el cual fue analizado por medio de un HPLC-MS por el Dr. Mark Bohlke, Alejandro Pino Figueroa, PhD y Timothy Maher, PhD; en el Massachusetts College of Pharmacy and Health Sciences of Boston. Para el análisis del contenido de Macamidas.

3.5.2. Análisis del porcentaje de mortalidad al momento de la aplicación de pilocarpina

Se realizó un análisis del porcentaje de ratas (WISTAR) utilizadas para el estudio, comparando de esta manera el porcentaje de animales obitos, los que no respondieron al modelo de la Pilocarpina y los que sobrevivieron al modelo de la Pilocarpina, para valorizar el total de animales utilizados en el estudio.

3.5.3. Análisis de los pesos antes de la aplicación de pilocarpina, al inicio de tratamiento y peso promedio después de los 31 días de tratamiento.

Para describir la diferencia de pesos antes de la aplicación de Pilocarpina, al inicio del tratamiento y el peso promedio después de los 31 días, se realizó un análisis de la variación de frecuencias y un gráfico en Microsoft Excel, para describir si existe una diferencia significativa con respecto al peso por cada etapa analizada durante el proyecto.

3.5.4. Análisis de la ganancia de peso durante los 31 días de tratamiento por cada grupo experimental

Se obtuvo un promedio general de los pesos por día y por grupo experimental, por medio de una variación de frecuencias y un gráfico en Excel para poder observar si realmente existe una variación con respecto al peso.

3.5.5. Análisis del tiempo de latencia entre la primero crisis y el status epiléptico después de la inyección de pilocarpina

Se realizó una comparación en minutos de acuerdo al tiempo de latencia entre la primera crisis y el tiempo total para llegar SE. Por medio de una prueba t de Student, se podrá determinar si existe o no una variación significativa con

respecto a estos dos puntos mencionados, el cual será representando con una gráfica en Excel

3.5.6. Análisis de la frecuencia de crisis

El análisis de la frecuencia crisis mensual se realizó mediante el monitoreo por medio de cámaras de video durante las 24 horas del día, finalmente se procedió a observar el número de crisis espontaneas de cada animal durante los 31 días de tratamiento. Se procesaron los datos en forma mensual por cada grupo de estudio (**Grupo Control, Dosis de 1 mg/kg de peso y Dosis de 5 mg/kg de peso**) sacando el promedio de las crisis totales.

Fue realizada una prueba t de Student, la cual prueba que cada grupo de experimentación recibe diferentes tipos de tratamiento; seguidamente realizamos una prueba paramétrica ANOVA, mediante pruebas múltiples de comparación con Tukey, Tukey b y Duncan, la cual prueba si existe diferencia en la frecuencia de crisis en cada grupo experimental; donde será definido un rango de confianza del 95%, utilizando el programa estadístico IBM SPSS 19.



CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Obtención de la harina de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

Se obtuvieron 5 kilos de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) como fruto, luego paso por un proceso de picado y secado.

Una vez seco pasó por un proceso de molienda, obteniendo 4 kilos de harina de Maca. Por último, fue almacenada en bolsas de papel, para evitar el contacto con la luz (Figura 12)

Figura 12: Obtención de la harina de “MACA”



FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Power Point 2010

4.2 Extracción de macamidas a partir de la harina de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

4.2.1. Extracción metanólica

Se realizó una extracción metanólica por Soxhlet, en la cual utilizamos 750 g de harina de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) en 1.5 litros de metanol. Utilizamos este método de extracción para obtener los compuestos solubles en metanol (Figura 13)

Figura 13: Extracción metanólica



FUENTE: CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

4.2.2. Concentración por rotavaporación

Una vez obtenido 1.5 litros de extracto metanólico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), procedimos a concentrarlo hasta un volumen de 500 mL en el rotavapor (Figura 14).

Figura 14: Rotavapor**FUENTE:** CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

4.2.3. Extracción continua líquido – líquido

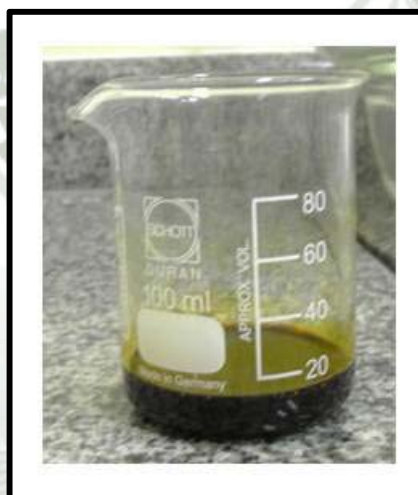
Al obtener los 500 mL del extracto metanólico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), procedimos a realizar una extracción continua líquido – líquido con pentano, a una temperatura determinada y con un sistema de refrigeración en baño de hielo (Figura 15).

Figura 15: Extracción Pentánica**FUENTE:** CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

4.2.4. Concentración de macamidas por rotavaporación

Se obtuvieron 500 mL del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), el cual fue concentrado por medio de rotavaporación obteniendo 10.32 g de extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA) (Figura 16), y presentó una consistencia viscosa tipo miel, color caramelo y un fuerte aroma a maca.

Figura 16: Macamidas



FUENTE: CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

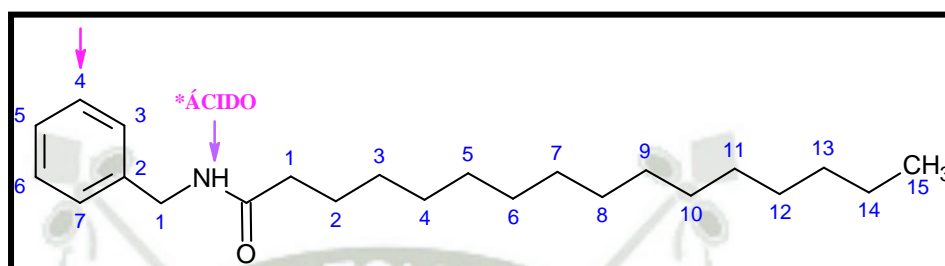
4.3 Evaluación de la cantidad de macamidas obtenidas en el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

Se obtuvieron 10.32 g de extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), el cual fue analizado por medio de HPLC-MS para determinar el tipo y la cantidad de Macamidas presentes. En la Figura 17 podemos observar la estructura base de las Macamidas.

Podemos observar los datos obtenidos después del análisis en ug/g de extracto y expresado en ug/g de planta, dando como resultado que la cantidad de

Macamidas obtenidas en 1 g de planta fue más concentrada para la Macamida con ácido linoleico (Anexo 12), que contiene un grupo metoxi y dobles enlaces lo que incrementa su actividad. Los detalles pueden ser observados en el Tabla 9.

Figura 17: Estructura base de la Macamidas



FUENTE: Pharmaceutical Society of Japan, 2002⁽⁶²⁾ - Software ChemsSketch

Tabla 9: Análisis del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA)

* ACIDO EN LA MACAMIDA	RESULTADOS EXPRESADOS POR PESO DE EXTRACTO ug/g	RESULTADOS EXPRESADOS POR PESO DE PLANTA ug/g
Palmítico:	5507.74	75.79
Esteárico:	267.32	3.68
Oleico:	3183.44	43.80
Metoxi-oleico:	239.31	3.30
Linoleico:	8023.12	110.40
Metoxi-linoleico:	679.85	9.36
Linolénico:	5253.67	72.30
Metoxi-linolénico:	314.36	4.32
Metoxi-palmítico:	215.24	2.96

FUENTE: MCPHS - Pino Figueroa y T. Maher, 2012. Edición propia.

4.4 Análisis del porcentaje de mortalidad al momento de la administración de pilocarpina

Teniendo en cuenta datos establecidos en la literatura, la dosis de la pilocarpina necesaria para desencadenar todos los eventos característicos de un estado de mal epiléptico en animales, varía de 300 a 380 mg/kg de pilocarpina ⁽²⁵⁾, la cual es semejante a una crisis observada en la epilepsia de lóbulo temporal en humanos.

Inicialmente las 46 ratas fueron separadas en 4 grupos para poder realizar el modelo, inyectamos una dosis de 350 mg/kg de pilocarpina en cada animal. Podemos observar que el 28% de animales murieron, 26% no consiguieron entrar en SE, mientras que 46% de los animales presentaron el SE. Los detalles los observamos en la Tabla 10.

Tabla 10: Descripción de la población de animales en estudio

GRUPO	Nº RATA	% RATAS	MUERTAS	% MUERTAS	NO SE	% NO SE	SE	% SE
1	10	22%	4	9%	5	11%	1	2%
2	10	22%	4	9%	3	7%	3	7%
3	20	43%	2	4%	4	9%	14	30%
4	6	13%	3	7%	0	0%	3	7%
TOTAL	46	100%	13	28%	12	26%	21	46%

FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Excel 2010

4.5 Tiempo latencia desde la aplicación de la pilocarpina hasta la primera crisis y el status epiléptico

Se controló el tiempo transcurrido entre la aplicación de la pilocarpina y la primera crisis, seguidamente del tiempo transcurrido entre la primera crisis y el status epiléptico. Se puede observar que el tiempo promedio entre la aplicación de la Pilocarpina y la 1ra Crisis Epiléptica es de 28 minutos, mientras que el promedio de tiempo desde la aplicación de pilocarpina hasta el llegar al SE es de 30 minutos. Los detalles se pueden observar en la Tabla 11 y en la Figura 18.

Se realizó el análisis estadístico por medio de una Prueba t de Student, donde se puede observar que con respecto a la media entre el grupo I y II, son significativamente iguales. Seguidamente se realizó una Prueba t de Student para muestras independientes, donde indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$); se observa que para el tiempo de latencia con respecto a la primera crisis y el SE, son significativamente iguales; lo cual nos indica que no hay variación en el tiempo de latencia entre la primera crisis y el SE entre estos dos grupos. Todos los detalles se pueden observar en la Tabla 12 y 13.

Seguidamente se realizó el análisis estadístico por medio de una Prueba t de Student, donde se puede observar que con respecto a la media entre el grupo I y III, son significativamente iguales. Posteriormente se realizó una Prueba t de Student para muestras independientes, donde indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$); se observa que para el tiempo de latencia con respecto a la primera crisis y el SE, son significativamente iguales; lo cual nos indica que no hay variación en el tiempo de latencia entre la primera crisis y el SE entre estos dos grupos. Todos los detalles se pueden observar en la Tabla 14 y 15.

Finalmente se realizó el análisis estadístico por medio de una Prueba t de Student, donde se puede observar que con respecto a la media entre el grupo II y III, son significativamente iguales. Seguidamente se realizó una Prueba t de

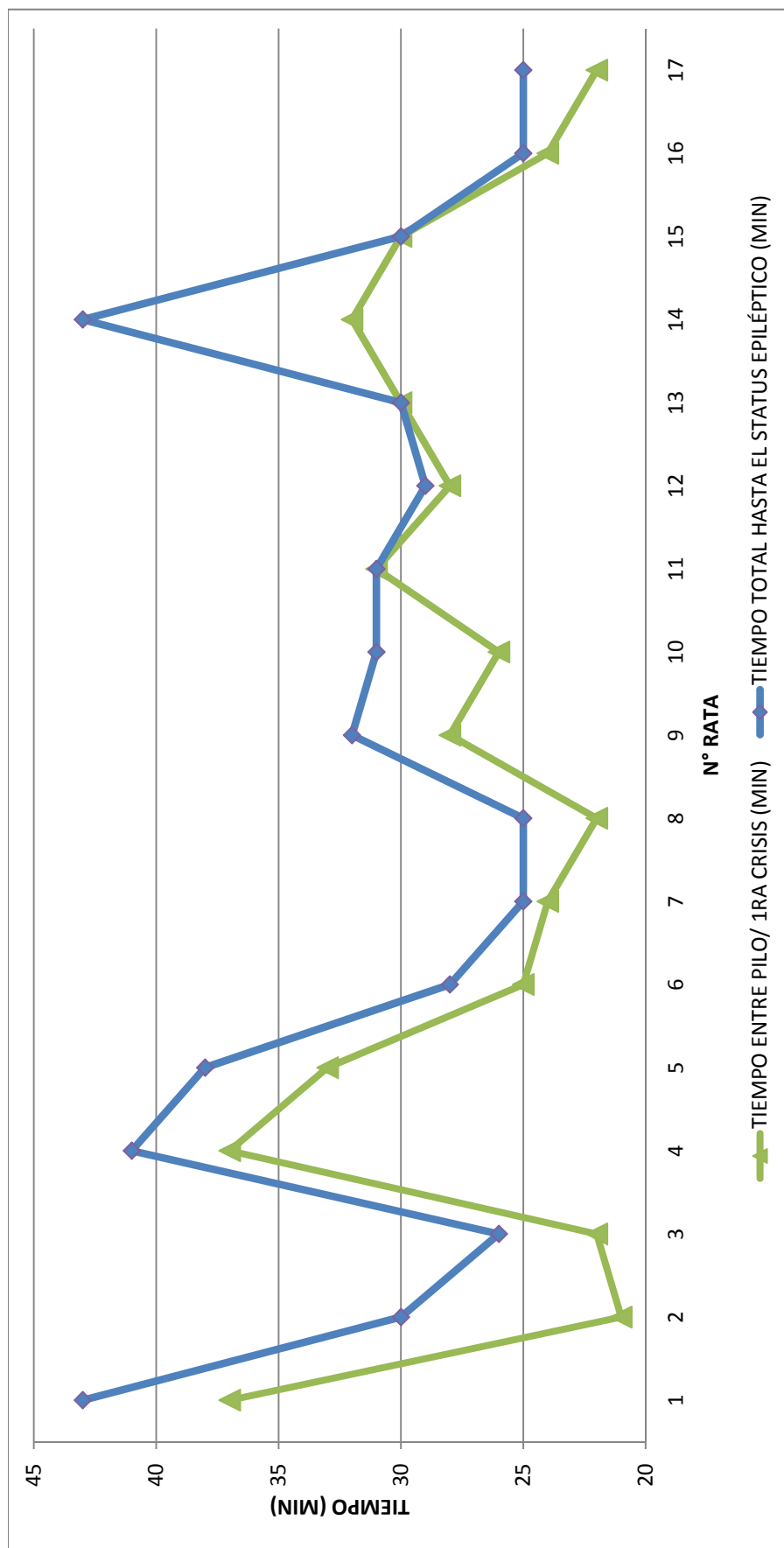
Student para muestras independientes, donde indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$); se observa que para el tiempo de latencia con respecto a la primera crisis y el SE, son significativamente iguales; lo cual nos indica que no hay variación en el tiempo de latencia entre la primera crisis y el SE entre estos dos grupos. Todos los detalles se pueden observar en la Tabla 16 y 17.

Tabla 11: Tiempo de latencia entre la primera crisis y el status epiléptico

N°	GRUPO	TIEMPO ENTRE	TIEMPO TOTAL
		PILO/ 1RA CRISIS (MIN)	HASTA EL STATUS EPILÉPTICO (MIN)
1	I	37	43
2		21	30
3		22	26
4		37	41
5		33	38
6	II	25	28
7		24	25
8		22	25
9		28	32
10		26	31
11		31	31
12	III	28	29
13		30	30
14		32	43
15		30	30
16		24	25
17		22	25

FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Excel 2010

Figura 18: Tiempo de latencia entra la primera crisis y el status epiléptico



FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Excel 2010

Tabla 12: Prueba t de Student entre el grupo I y II

ESTADÍSTICOS DE GRUPO						
	TIPO DE TRATAMIENTO		N	MEDIA	DESVIACIÓN TÍP.	ERROR TÍP. DE LA MEDIA
	I	II				
TIEMPO TRANSCURRIDO PARA LA PRIMERA CRISIS	I	II	5	31,40	4,79	2,11
			6	27,66	5,39	2,20
TIEMPO TOTAL PARA LA CRISIS CRONICA	I	II	5	35,60	7,46	3,34
			6	30,66	6,56	2,67

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 13: Prueba t de Student para muestras independientes entre el grupo I y II

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES										
PRUEBA DE LEVENE PARA IGUALDAD DE VARIANZAS										
PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS										
	F	SIG.	T	GL	SIG. (BILATERAL)	DIFERENCIA DE MEDIAS	ERROR TÍP. DE LA DIFERENCIA	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA	INFERIOR	SUPERIOR
TIEMPO TRANSCURRIDO PARA LA PRIMERA CRISIS	,21	,65	1,20	9	,25	3,73	3,09	-3,25	10,72	
TIEMPO TOTAL PARA LA CRISIS CRONICA	,44	,52	1,16	9	,27	4,93	4,22	-4,62	14,49	

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 14: Prueba t de Student entre el grupo I y III

ESTADÍSTICOS DE GRUPO				
	TIPO DE TRATAMIENTO	N	MEDIA	DESVIACIÓN TÍP. DE LA MEDIA
TIEMPO TRANSCURRIDO PARA LA PRIMERA CRISIS	I	5	31,40	4,72
	III	6	24,83	3,71
TIEMPO TOTAL PARA EL SE	I	5	35,60	7,46
	III	6	28,33	2,65
				1,08

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 15: Prueba t de Student para muestras independientes entre el grupo I y III

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES									
PRUEBA DE LEVENE PARA LA IGUALDAD DE VARIANZAS									
PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS									
	F	SIG.	T	GL	SIG. (BILATERAL)	DIFERENCIA DE MEDIAS	ERROR TÍP. DE LA DIFERENCIA	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA	
TIEMPO TRANSCURRIDO PARA LA PRIMERA CRISIS	,001	,974	2,58	9	,029	6,56	2,53	,82	12,30
TIEMPO TOTAL PARA LA CRISIS			2,52	7,57	,037	6,56	2,59	,51	12,61
TIEMPO TOTAL PARA LA CRISIS CRONICA	8,28	,018	2,23	9	,052	7,26	3,24	-,07	14,60
			2,06	4,84	,095	7,26	3,51	-1,84	16,38

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 16: Prueba t de Student entre el grupo II y III

ESTADÍSTICOS DE GRUPO					
	TIPO DE TRATAMIENTO		N	MEDIA	ERROR TÍP. DE LA MEDIA
	II	III			
TIEMPO TRANSCURRIDO PARA LA PRIMERA CRISIS	II	III	6	24,83	1,51
			6	27,66	2,20
TIEMPO TOTAL PARA LA CRISIS CRONICA	II	III	6	28,33	1,08
			6	30,66	2,67

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 17: Prueba t de Student para muestras independientes entre el grupo II y III

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES

PRUEBA DE LEVENE PARA LA IGUALDAD DE VARIANZAS		PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS					ERROR 95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA	
F	SIG.	T	GL	SIG. (BILATE RAL)	DIFEREN CIA DE MEDIAS	TÍP. DE LA DIFEREN CIA	INFERIOR	SUPERIOR
TIEMPO TRANSCURRI DO PARA LA PRIMERA CRISIS	3,35	-1,06	10	,31	-2,83	2,67	-8,78	3,11
	,56	-1,06	8,86	,31	-2,83	2,67	-8,89	3,22
TIEMPO TOTAL PARA LA CRISIS CRONICA	1,69	-,807	10	,43	-2,33	2,89	-8,77	4,10
	,22	-,807	6,59	,44	-2,33	2,89	-9,25	4,58

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

4.6 Análisis del peso de las ratas antes de la administración de pilocarpina, al inicio de tratamiento y peso promedio después de los 31 días de tratamiento

Se controló el peso de cada animal antes de la aplicación de la pilocarpina, al inicio del tratamiento con extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), y durante 31 días de tratamiento.

De esta manera observamos la variación entre los pesos por cada etapa en la Tabla 18 y en la Figura 19.

Claramente podemos observar que hay una variación en cuanto a pesos desde el momento de aplicar la Pilocarpina, hasta el término de tratamiento con el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), después de los 31 días.

También se podría considerar que el aumento de peso de los animales se deba a que el animal presenta un crecimiento normal durante el tratamiento al cual está siendo expuesto, también puede deberse a una posible disminución en el gasto energético; ya que los animales epilépticos son más susceptibles a tener un gasto energético mayor; y/o al tipo de alimentación que reciben durante todo este tiempo.

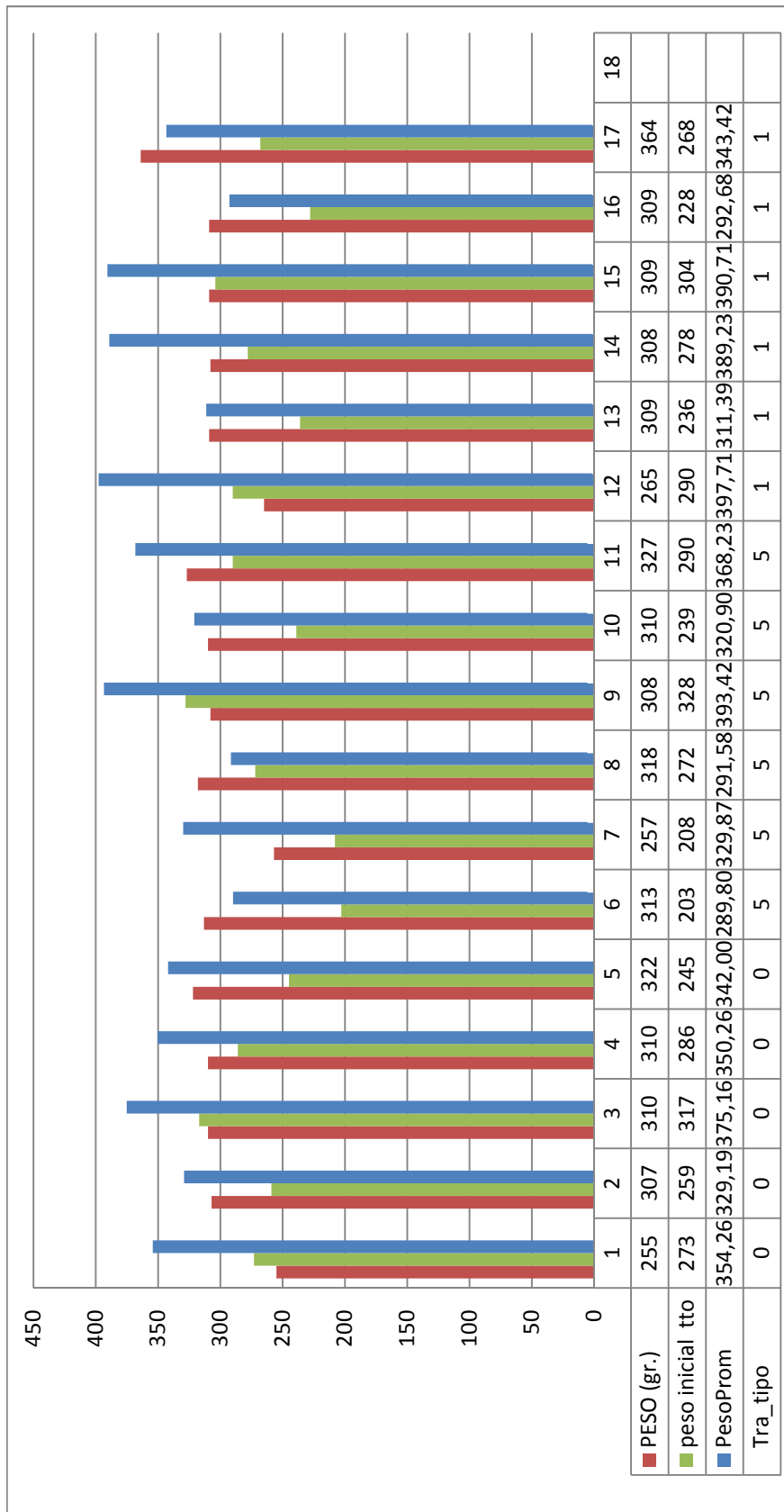
Tabla 18: Promedio de pesos por animal en cada etapa

	PESO AL MOMENTO DE APLICAR PILO (g)	PESO AL INICIO DE TRATAMIENTO CON MACA (g)	PESO PROMEDIO MENSUAL DE LAS RATAS EN ESTUDIO (g)
1	255,00	273,00	354,26
2	307,00	259,00	329,19
3	310,00	317,00	375,16
4	310,00	286,00	350,26
5	322,00	245,00	342,00
6	313,00	203,00	289,80
7	257,00	208,00	329,87
8	318,00	272,00	291,58
9	308,00	328,00	393,42
10	310,00	239,00	320,90
11	327,00	290,00	368,23
12	265,00	290,00	397,71
13	309,00	236,00	311,39
14	308,00	278,00	375,94
15	309,00	304,00	390,71
16	309,00	228,00	292,68
17	364,00	268,00	343,42

NUMERO DE RATAS

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Figura 19: Promedio de pesos por animal en cada etapa



FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Excel 2010

4.7 Análisis de la ganancia de peso durante los 31 días de tratamiento por cada grupo experimental

Se controló el peso de cada grupo de experimentación durante los 31 días de tratamiento.

Sacando la diferencia de pesos entre el primer y el último día de tratamiento, se observa que el grupo control aumento de peso en 128.8 g, el grupo con dosis de 1 mg/kg de peso aumento en 154 g y el grupo con dosis de 5 mg/kg de peso aumento en 132.19 g, determinando que existe mayor aumento de peso en el grupo experimental que recibió dosis de 1mg/kg de peso con respecto al grupo control y al grupo experimental que fue tratado con dosis de 5 mg/kg de peso. Todos los detalles son explicados en la Tabla 19 y Figura 20.

En el grupo control se observa menor aumento peso, porque solo se utilizó solución solvente, el grupo experimental que recibió dosis de 1 mg/kg de peso, presenta un aumento de peso mayor con respecto al grupo control, mientras que el grupo experimental que recibió dosis 5 mg/kg de peso, presenta una aumento de peso menor con respecto al grupo control.

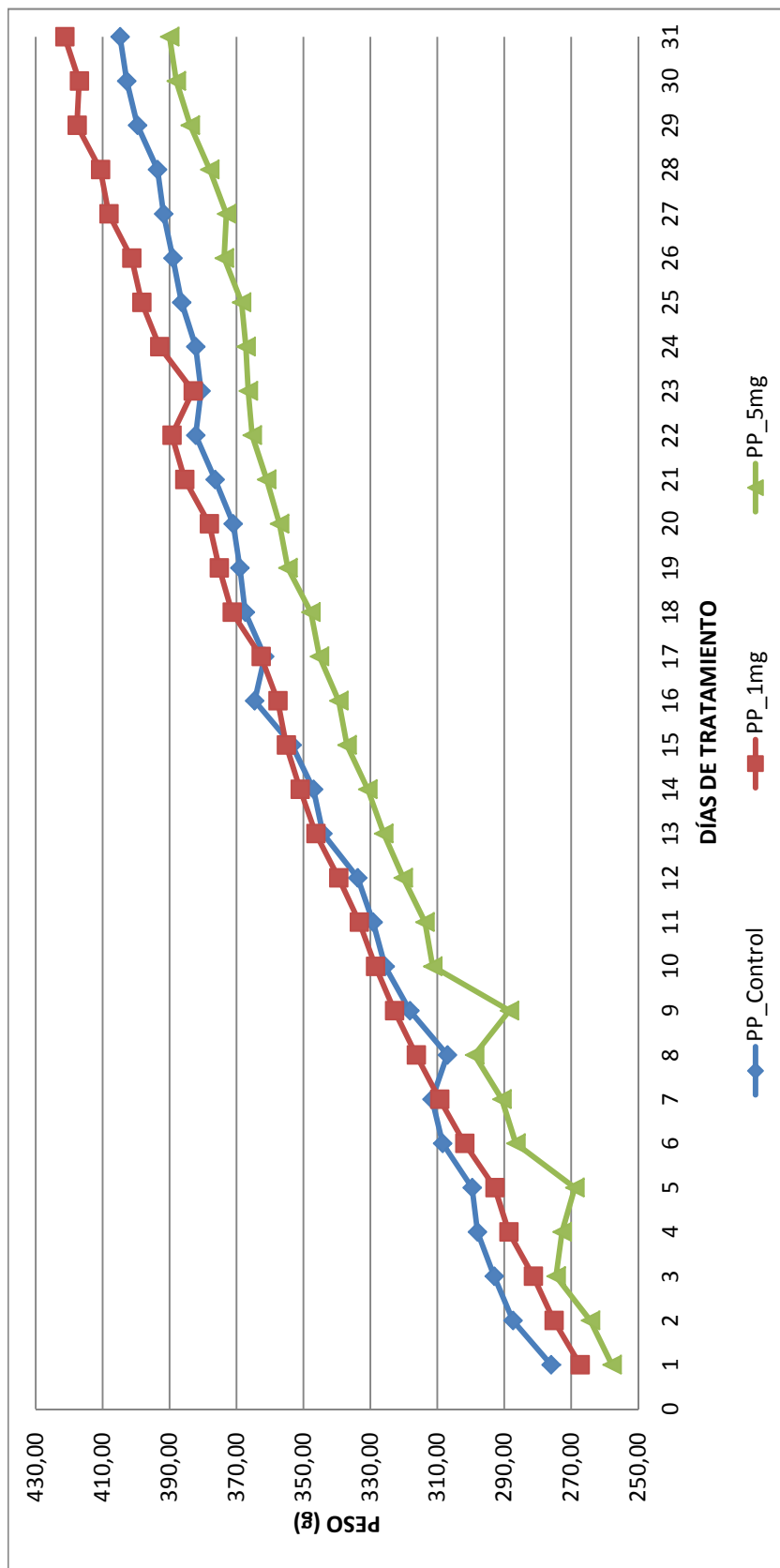
Esto puede deberse a que el grupo experimental con dosis 1 mg/kg de peso, haya tenido una disminución en la frecuencia de crisis durante los 31 días de tratamiento con extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA). Mientras el que grupo experimental con dosis de 5 mg/kg de peso no presenta un aumento de peso considerable, ya que la dosis puede encontrarse entre los límites de toxicidad haciendo que la frecuencia de crisis no tengan una disminución considerable.

Tabla 19: Promedio de pesos por grupo de experimentación en 31 días de tratamiento

N° Días	PP_Control (g)	PP_1mg (g)	PP_5mg (g)
1	276,00	267,33	257,81
2	287,40	275,17	264,27
3	293,00	281,33	274,54
4	298,00	288,67	272,74
5	299,60	292,83	268,92
6	308,40	301,83	286,54
7	311,60	309,33	290,72
8	307,00	316,33	298,87
9	318,20	322,83	288,46
10	325,60	328,50	311,39
11	329,20	333,33	313,70
12	333,80	339,50	320,20
13	344,20	346,33	326,04
14	347,00	351,00	330,79
15	353,40	355,17	336,99
16	364,60	357,67	339,47
17	361,60	362,67	345,23
18	367,40	371,33	347,79
19	369,00	375,17	354,67
20	371,00	378,17	357,17
21	376,40	385,50	361,00
22	382,20	389,33	365,33
23	380,60	383,00	366,50
24	382,20	393,00	367,17
25	386,40	398,33	368,50
26	389,00	401,33	373,67
27	391,80	408,17	373,00
28	393,60	410,67	378,00
29	399,60	417,67	383,83
30	402,80	417,00	388,00
31	404,80	421,33	390,00

FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Excel 2010

Figura 20: Promedio de pesos por grupo de experimentación



FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Excel 2010

4.8 Frecuencia de crisis durante los 31 días de tratamiento

Se realizó el análisis de la frecuencia de crisis para cada grupo experimental por medio de un sistema de filmación, el cual se encontró monitoreando durante las 24 horas del día. Este análisis fue realizado desde el inicio hasta el fin de tratamiento con extracto pentánico de *Lepidum peruvianum* Chacón *sp.* (MACA). Se evaluaron los resultados por medio de dos pruebas estadísticas, una Prueba t de Student y ANOVA.

Primeramente se puede observar que hay una variación entre el grupo experimental que recibió dosis de 1mg/kg de peso con respecto al grupo control y al grupo experimental que recibió dosis de 5 mg/kg de peso. Los detalles pueden ser observados en la Tabla 20, figura 21 y Anexo 13,14, 15

PRUEBA t DE STUDENT

Se realizó un análisis estadístico por medio de una Prueba t de Student para el grupo control y el grupo experimental que recibió dosis de 5 mg/kg de peso, donde se observa que con respecto a la media son significativamente diferentes. Seguidamente se realizó una Prueba t de Student para muestras independientes donde indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), donde se observa que son significativamente diferentes. Todos los detalles se observan en la Tabla 21 y 22.

Seguidamente se realizó un análisis estadístico por medio de una Prueba t de Student para el grupo control y el grupo experimental que recibió dosis de 1 mg/kg de peso, donde se observa que con respecto a la media son significativamente diferentes. Posteriormente se realizó una Prueba t de Student para muestras independientes donde indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), donde se observa que son significativamente diferentes. Todos los detalles se observan en la Tabla 23 y 24.

Finalmente se realizó un análisis estadístico por medio de una Prueba t de Student para el grupo experimental que recibió dosis de 1 mg/kg de peso y el que recibió dosis de 5 mg/kg de peso, donde se observa que con respecto a la media son significativamente diferentes. Por último se realizó una Prueba t de Student para muestras independientes donde indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), donde se observa que son significativamente diferentes. Todos los detalles se observan en la Tabla 25 y 26

ANOVA

Se realizó un análisis por ANOVA, donde se observa con respecto a la media que la dosis de 1 mg/kg de peso con respecto al grupo control y la dosis de 5 mg/kg de peso, es significativamente diferente. Lo cual nos indica que hay variación en la frecuencia crisis entre estos grupos experimentales. Los detalles se observan en la Tabla 27.

Seguidamente se realizó un análisis estadístico inter e intra grupos, donde indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), observando que, entre inter-grupos e intra-grupos, son significativamente iguales. Demostrando de esta manera que la frecuencia de crisis es dependiente de la dosis, ya los datos presentan una distribución normal. Los detalles se observan en el Tabla 28.

Posteriormente se realizó pruebas post hoc, donde TUKEY indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), observando que la dosis de 1 mg/kg de peso con respecto al grupo control y la dosis de 5 mg/kg de peso, es significativamente diferente. Lo cual nos indica que hay variación en la frecuencia crisis entre estos grupos experimentales. Los detalles se observan en la Tabla 29.

Siguiendo con el análisis se realizó un ANOVA mediante comparaciones múltiples, observando lo siguiente:

- TUKEY indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), observando así que la dosis de 1 mg/kg de peso con respecto al grupo control y la dosis de 5 mg/kg de peso, es significativamente diferente.
- TUKEY B indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), observando así que la dosis de 1 mg/kg de peso con respecto al grupo control y la dosis de 5 mg/kg de peso, es significativamente diferente.
- DUNCAN indica que la muestra estadística es significativa ($P \leq 0.05$), observando así que la dosis de 1 mg/kg de peso con respecto al grupo control y la dosis de 5 mg/kg de peso, es significativamente diferente.

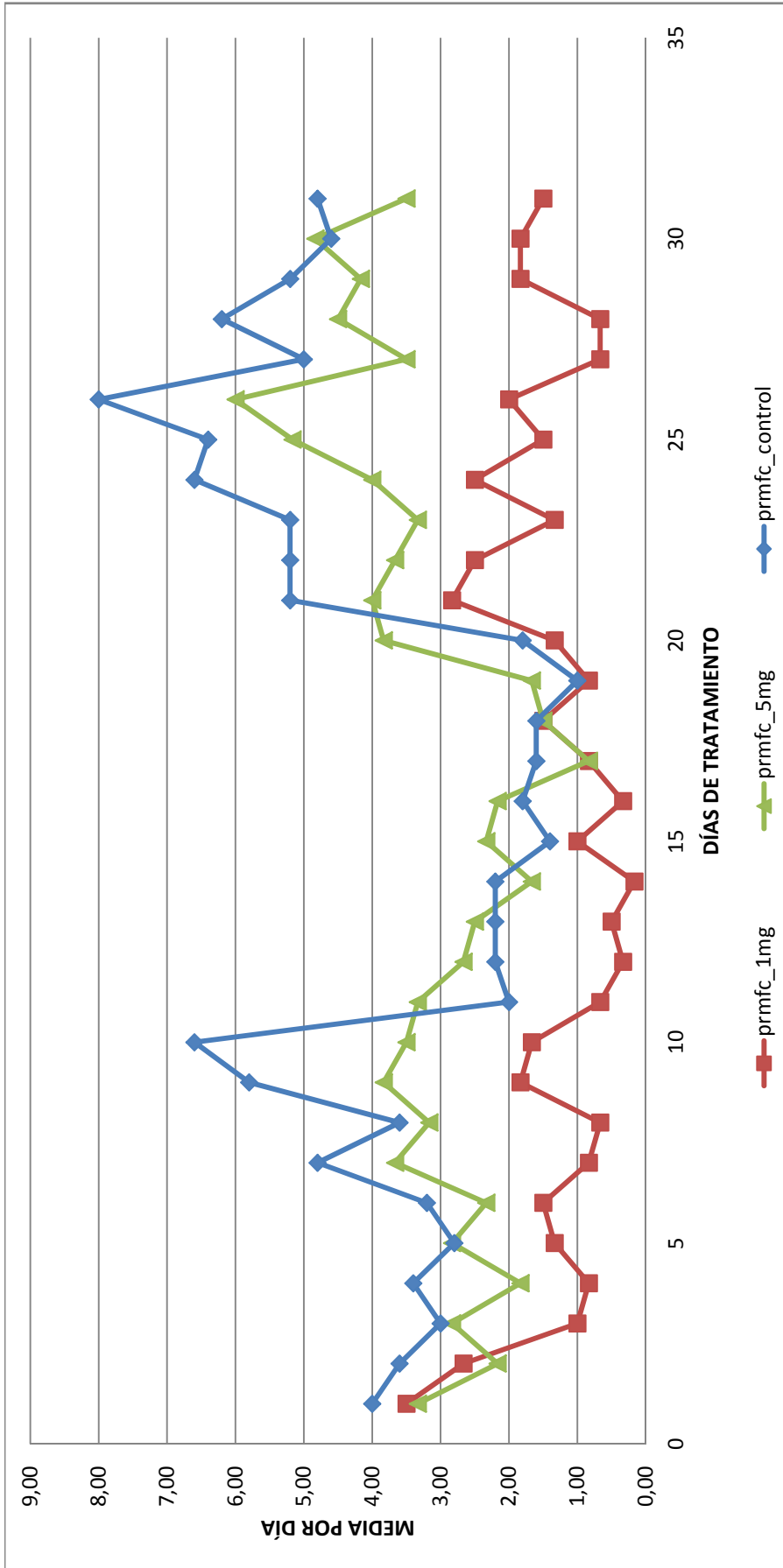
Por último la prueba estadística ANOVA para comparaciones múltiples, muestra que el control y la dosis de 5 mg/kg de peso, son significativamente iguales con respecto a la frecuencia de crisis por 31 días tratamiento con extracto pentánico de Maca, mientras que la dosis de 1 mg/kg de peso con respecto al grupo control y a la dosis de 5 mg/kg de peso, es significativamente diferente con respecto a la frecuencia de crisis, demostrando de esta manera que la dosis de 1 mg/kg de peso, disminuye de manera considerable las crisis epilépticas. Todos los detalles pueden ser observados en la Tabla 30 y Figura 22.

Tabla 20: Frecuencia de crisis de los animales en los 31 días de tratamiento

TIPO DE ADMINISTRACIÓN	RATA	FRECUENCIA DE CRISIS (MEDIA/MES)
Ninguno	1	5,00
	2	4,00
	3	4,00
	4	4,00
	5	2,00
Maca 1 mg/kg	6	1,00
	7	2,00
	8	2,00
	9	1,00
	10	2,00
	11	1,00
Maca 5 mg/kg	12	5,00
	13	4,00
	14	3,00
	15	5,00
	16	1,00
	17	1,00

FUENTE: Microsoft Excel 2010. Edición propia

Figura 21: Frecuencia de crisis durante los 31 días de tratamiento



FUENTE: Elaboración propia – Microsoft Excel 2010

Tabla 21: Prueba t de Student para el grupo control y dosis 5 mg/kg de peso

ESTADÍSTICOS DE GRUPO						
PROMEDIO DE	TIPO DE	TRATAMIENTO SEGUN	N	MEDIA	DESVIACIÓN	ERROR
FC	DOSIS	DOSIS		TÍP. DE LA	TÍP.	MEDIA
	CONTROL		5	3,90	1,01	,45
	5 MG		6	3,18	1,59	,64

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 22: Prueba t de Student para muestras independientes para el grupo control y dosis 5 mg/kg de peso

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES										
PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS										
PRUEBA DE LEVENE PARA LA IGUALDAD DE VARIANZAS					PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS					
	F	SIG.	T	GL	SIG. (BILATERAL)	DIFERENCIA A DE MEDIAS	ERROR TÍP. DE LA DIFERENCIA A	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA	INFERIOR	SUPERIOR
PROMEDIO DE FC	VARIANZAS IGUALES	1,65	,231	,87	9	,405	,72	,82	-1,14	2,59
	NO VARIANZAS IGUALES			,91	8,53	,387	,72	,79	-1,08	2,53

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 23: Prueba t de Student para el grupo control y dosis 1 mg/kg de peso

ESTADÍSTICOS DE GRUPO				
TIPO DE TRATAMIENTO	N	MEDIA	DESVIACIÓN TÍP.	ERROR TÍP. DE LA MEDIA
CONTROL	5	3,90	1,01	,45
1 MG	6	1,37	,34	,14

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 24: Prueba t de Student para muestras independientes para el grupo control y dosis 1 mg/kg de peso

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES									
PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS									
PRUEBA DE LEVENE PARA LA IGUALDAD DE VARIANZAS									
PRUEBA DE LEVENE PARA LA IGUALDAD DE VARIANZAS		PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS		PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS		PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS		PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS	
F	SIG.	T	GL	SIG. (BILATERAL)	DIFERENCIA DE MEDIAS	ERROR TÍP. DE LA DIFERENCIA	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA	A	SUPERIOR
VARIANZAS IGUALES	3,22	5,77	9	,000	2,53	,43	1,54		3,52
NO VARIANZAS IGUALES	,106	5,32	4,79	,004	2,53	,47	1,29		3,77
PROMEDIO DE FC									

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 25: Prueba t de Student para la dosis de 1 mg/kg de peso y dosis 5 mg/kg de peso

ESTADÍSTICOS DE GRUPO				
TIPO DE TRATAMIENTO	N	MEDIA	DESVIACIÓN TÍP.	ERROR TÍP. DE LA MEDIA
1 MG	6	1,37	,349	,14
5 MG	6	3,18	1,59	,64

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 26: Prueba t de Student para muestras independientes para la dosis de 1 mg/kg de peso y dosis 5 mg/kg de peso

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES									
PRUEBA DE LEVENE PARA LA IGUALDAD DE VARIANZAS					PRUEBA T PARA LA IGUALDAD DE MEDIAS				
F	SIG.	T	GL	SIG. (BILATERAL)	DIFERENCIA DE MEDIAS	ERROR TÍP. DE LA DIFERENCIA	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA		
							INFERIOR		SUPERIOR
VARIANZAS IGUALES	9,88	,010	-2,72	10	,021	-1,81	,66	-3,29	- ,32
NO VARIANZAS IGUALES			-2,72	5,48	,038	-1,81	,66	-3,47	- ,14

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 27: Frecuencia de crisis por los 31 días de tratamiento por la prueba ANOVA

DESCRIPTIVOS		PROMEDIO DE FC		INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA AL 95%		MÍNIMO	MÁXIMO
MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	ERROR TÍPICO	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR			
CONTROL	3,90	1,01	,45	2,64	5,16	2,10	4,55
1 MG	1,37	,34	,14	1,00	1,73	,68	1,58
5 MG	3,18	1,59	,64	1,51	4,85	1,10	4,77
TOTAL	2,75	1,51	,36	1,97	3,53	,68	4,77

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 28: Frecuencia de crisis por los 31 días de tratamiento por inter-grupos y intra-grupos según la prueba ANOVA

ANOVA					
PROMEDIO DE FC					
	SUMA DE CUADRADOS	GL	MEDIA CUADRÁTICA	F	SIG.
INTER-GRUPOS	19,20	2	9,60	7,72	,005
INTRA-GRUPOS	17,39	14	1,24		
TOTAL	36,60	16			

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 29: Frecuencia de crisis por los 31 días de tratamiento mediante pruebas Post Hoc por la prueba ANOVA

COMPARACIONES MÚLTIPLES						
VARIABLE DEPENDIENTE: PROMEDIO DE FC						
(I) TIPO DE TRATAMIENTO SEGUN DOSIS	(J) TIPO DE TRATAMIENTO SEGUN DOSIS	DIFERENCIA DE MEDIAS (I-J)	ERROR TÍPICO	SIG.	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95%	
					LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
CONTROL	1 MG	2,53*	,67	,006	,76	4,30
	5 MG	,72	,67	,547	-1,04	2,48
1 MG	CONTROL	-2,53*	,67	,006	-4,30	-,76
	5 MG	-1,81*	,64	,035	-3,49	-,12
5 MG	CONTROL	-,72	,67	,547	-2,48	1,04
	1 MG	1,81*	,64	,035	,12	3,49

HSD DE TUKEY

*La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Tabla 30: Frecuencia de crisis por los 31 de tratamiento mediante comparaciones múltiples por la prueba ANOVA

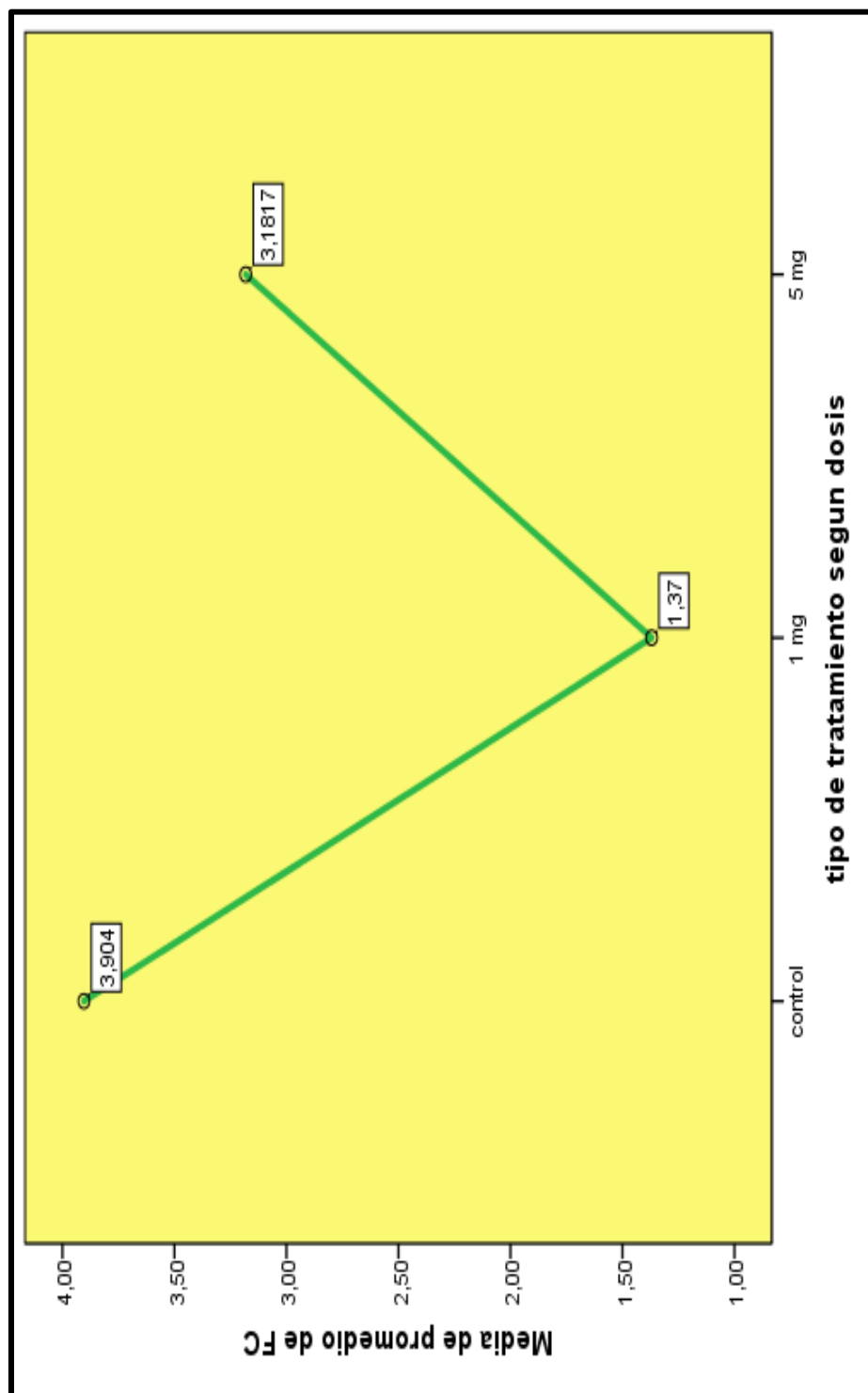
PROMEDIO DE FC				
	TIPO DE TRATAMIENTO SEGUN DOSIS	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05	
			1	2
			HSD DE TUKEY^{A,B}	1 MG
5 MG	6			3,18
CONTROL	5			3,90
SIG.		1,00		,53
TUKEY B^{A,B}	1 MG	6	1,37	
	5 MG	6		3,18
	CONTROL	5		3,90
DUNCAN^{A,B}	1 MG	6	1,37	
	5 MG	6		3,18
	CONTROL	5		3,90
	SIG.		1,00	,29

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,625
- b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

Figura 22: Frecuencia de crisis por ANOVA



FUENTE: SPSS 19 IBM. Edición propia

4.9 Análisis de migración neuronal a nivel del hipocampo y giro dentado

Las alteraciones en la migración neuronal pueden producir importantes malformaciones en el cerebro, y en humanos están relacionadas con el retraso mental y la epilepsia en los casos más graves ⁽⁴⁸⁾. Según trabajos realizados, se puede evidenciar que durante la epilepsia hay una clara migración anormal de las neuronas. ⁽⁵⁰⁾.

Es por esto que han despertado gran interés entre los neurólogos responsables de las unidades de epilepsia en los últimos años, ya que con las nuevas técnicas de neuroimagen han dejado de ser un hallazgo *postmortem* y se diagnostican cada vez con mayor frecuencia ⁽⁴⁹⁾.

Al realizar el análisis de imágenes en las diferentes zonas del hipocampo y giro dentado, observadas en el microscopio a diferentes aumentos; podemos determinar lo siguiente:

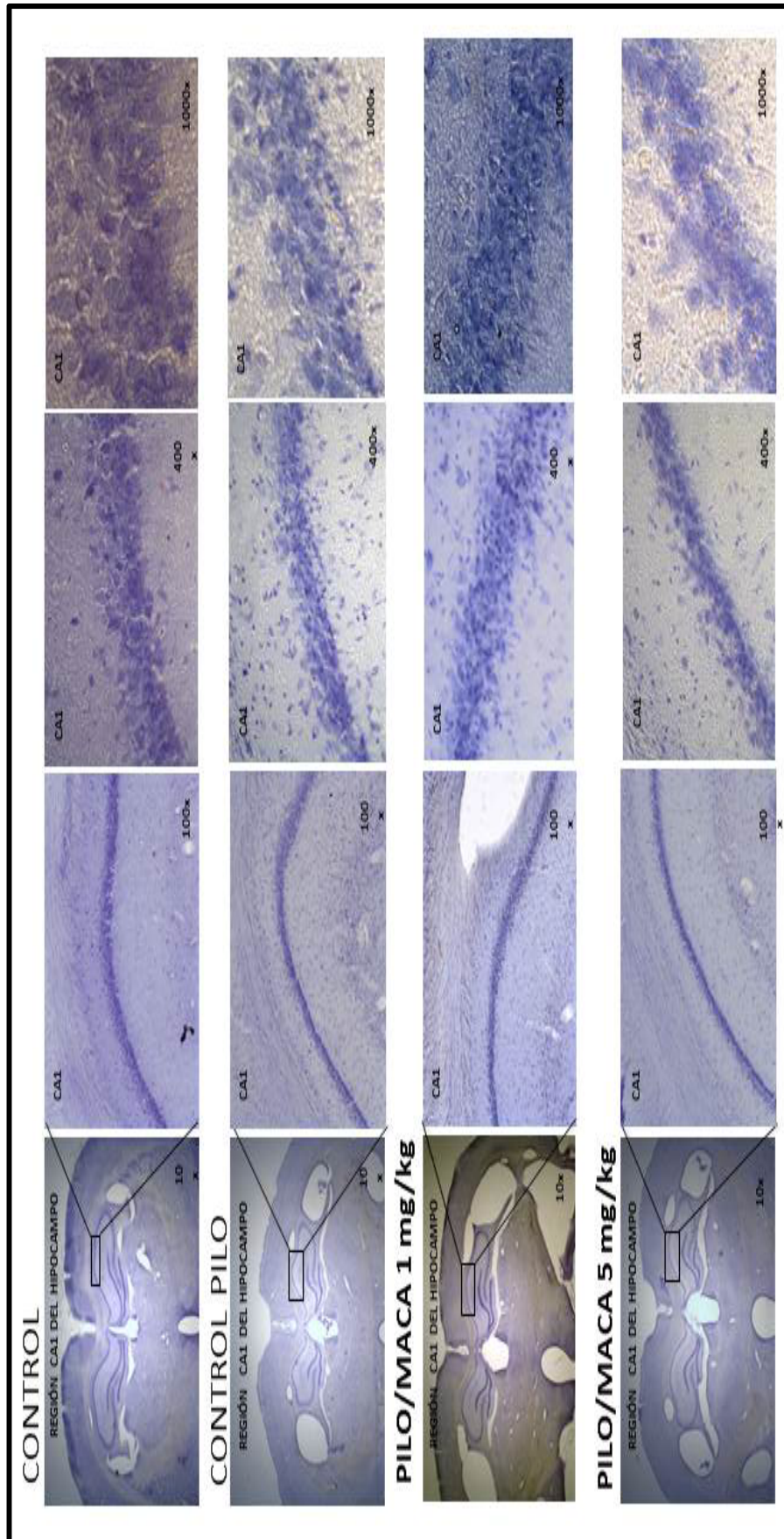
- A nivel de la región CA1 del hipocampo, podemos observar que, comparando cada tipo de tratamiento con el grupo control/pilo, existe mayor migración neuronal en el grupo que recibió dosis de 5 mg/kg de peso durante los 31 días de tratamiento. Determinando de esta manera que no hubo una disminución considerable en la frecuencia de crisis. Los detalles se observan en la Figura 23.
- A nivel de la región CA3 del hipocampo, podemos observar que, comparando cada tipo de tratamiento con el grupo control/pilo, existe menor migración neuronal, tanto el grupo de recibió dosis de 1 mg/kg de peso y dosis de 5 mg/kg de peso durante los 31 días de tratamiento. Esto

se debe a que a este nivel del hipocampo el daño causado por la frecuencia de crisis es menor, lo cual implica que haya menor migración neuronal. Los detalles se observan en la Figura 24.

- A nivel de la región HILO del giro dentado, podemos observar que, comparando cada tipo de tratamiento con el grupo control/pilo, existe migración neuronal, en el grupo de recibió dosis de 5 mg/kg de peso durante los 31 días de tratamiento. Mientras que en el grupo que recibió dosis de 1 mg/kg de peso no presente una migración neuronal considerable. Los detalles se observan en la Figura 25..

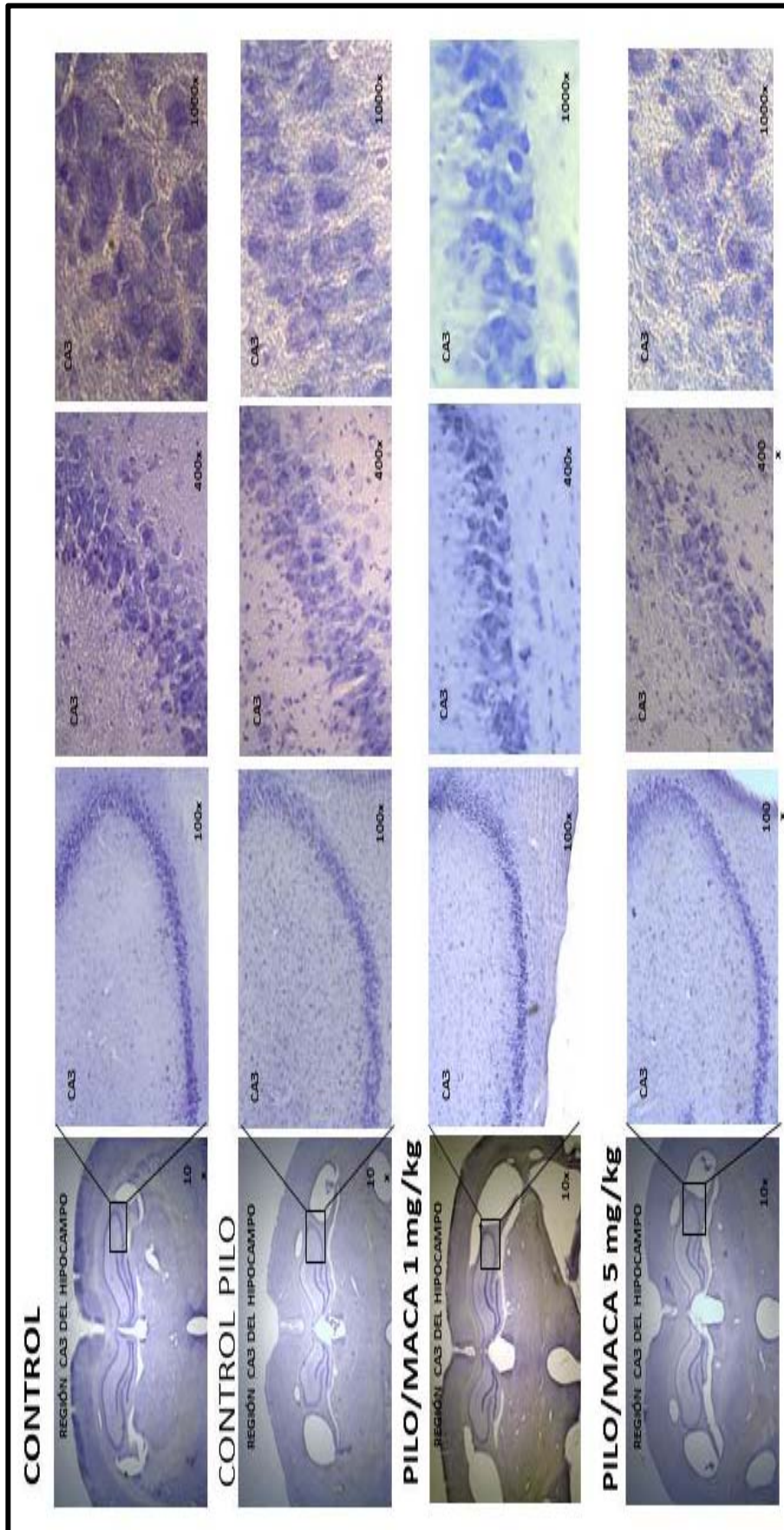


Figura 23: Región CA1 del hipocampo



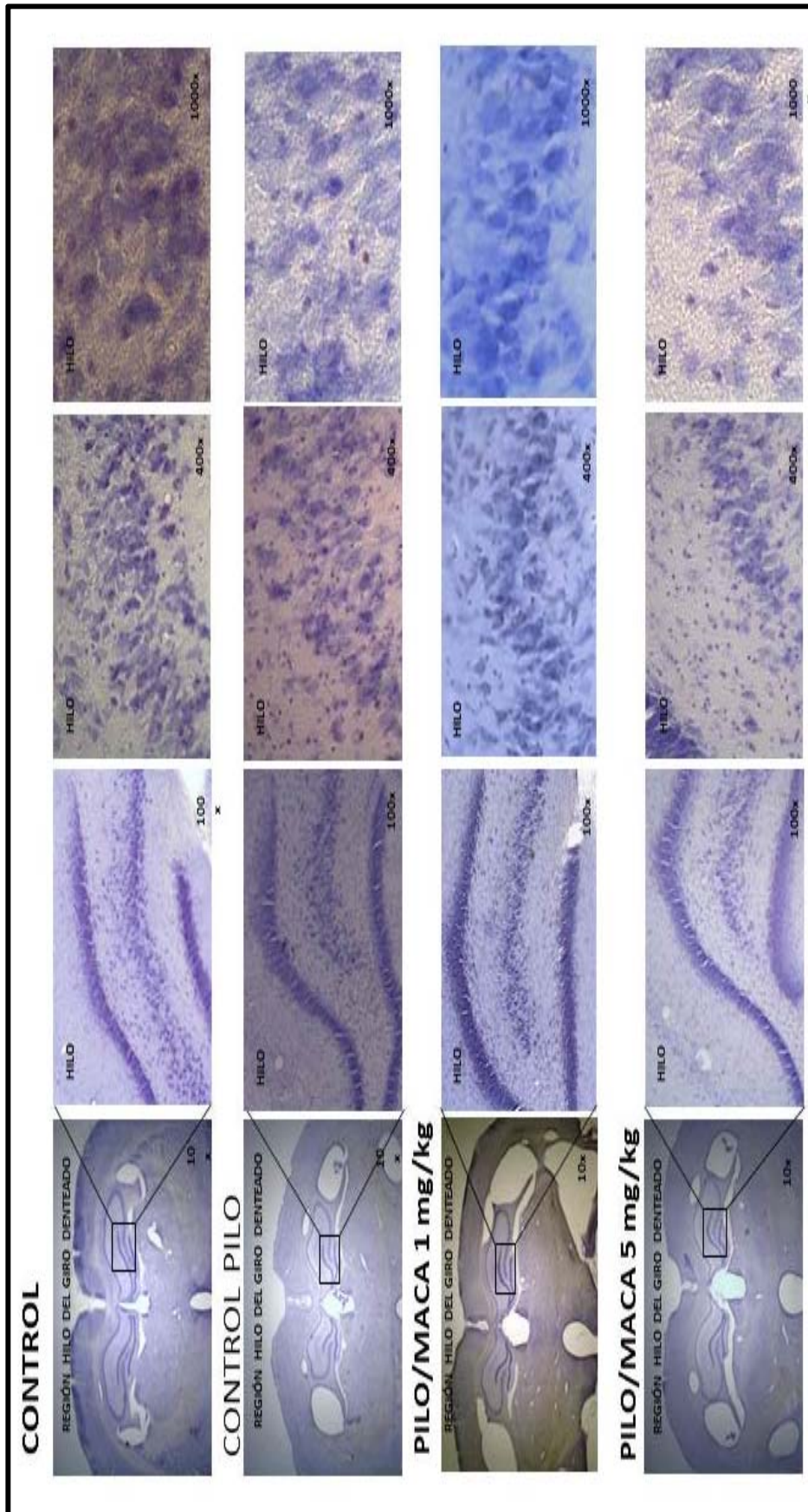
FUENTE: CETEC- São Paulo, Brasil, 2012. Elaboración propia

Figura 24: Región CA3 del hipocampo



FUENTE: CETEC- São Paulo, Brasil,2012. Elaboración propia

Figura 25: Región HILO del giro dentado



FUENTE: CETEC- São Paulo, Brasil, 2012. Elaboración propia.



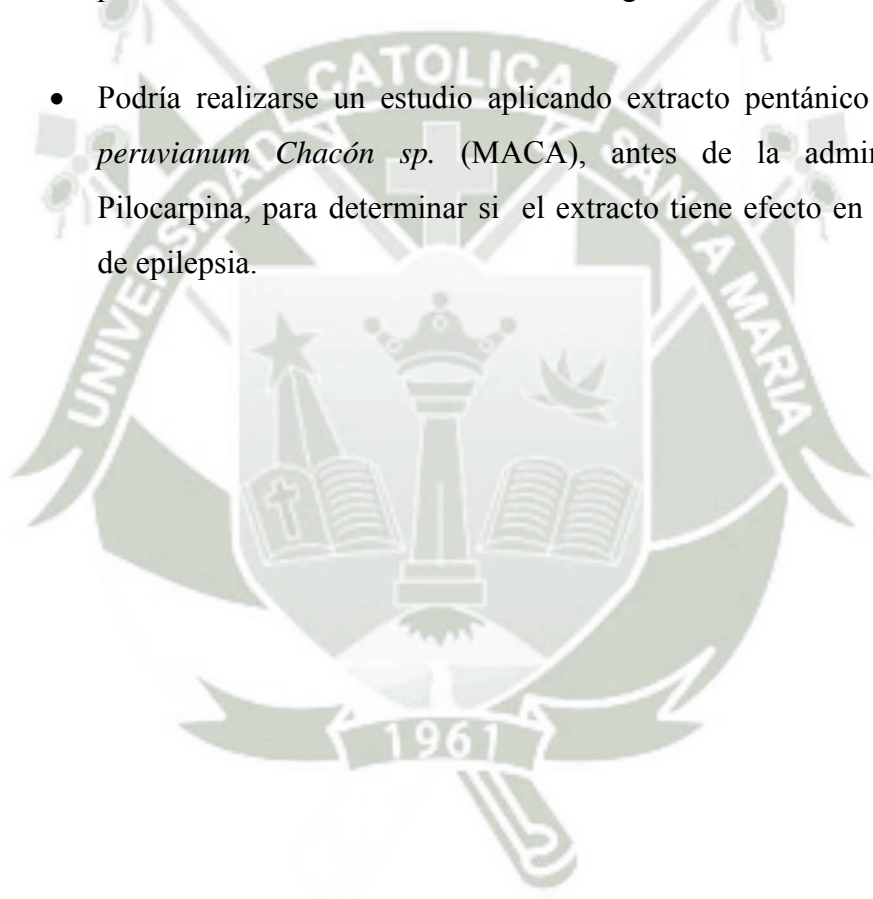
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

5.1.CONCLUSIONES

- **PRIMERA:** Las macamidas contenidas en el extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), demostraron que tienen efecto anticonvulsivante a dosis bajas.
- **SEGUNDA:** Se obtuvo 10.32 g del extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), a partir de los 750 g de harina de Maca.
- **TERCERA:** Se determinó que la macamida más concentrada en 1 g de planta fue la del ácido linoleico.
- **CUARTA:** Se demostró que no existe diferencia significativa con respecto al tiempo en el cual se produce la primera crisis y el SE.
- **QUINTA:** Se concluyó, que la dosis de 1mg/kg de peso disminuye en mayor proporción las crisis epilépticas, haciendo que los animales de este grupo experimental tengan una mejoría al igual que un aumento de peso. Mientras que los animales del grupo control y los que recibieron dosis de 5 mg/kg de peso, no presentan diferencia significativa a nivel de frecuencia crisis, esto puede deberse a que la dosis de 5 mg/kg de peso puede llegar a ser tóxica y no ayude a la disminución de las crisis epilépticas.

5.2.SUGERENCIAS

- Aislar cada componente del extracto Pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), para analizarlos individualmente, para de esta manera poder determinar cuál o cuáles podrían tener un mayor efecto sobre la disminución de las crisis epilépticas.
- Se podrían realizar proyectos, en los cuales sería interesante utilizar dosis inferiores a 1 mg/kg de peso conjuntamente con las dosis ya utilizadas para determinar si existe una variación significativa entre sí.
- Podría realizarse un estudio aplicando extracto pentánico de *Lepidium peruvianum Chacón sp.* (MACA), antes de la administración de Pilocarpina, para determinar si el extracto tiene efecto en la prevención de epilepsia.



BIBLIOGRAFÍA

1. *Raíces y tuberculos andinos*. Flores, S. E., Walker, T. S. y Guimaraes, R. L. 2, 2003, Hortiscience, Vol. 38, págs. 161-167.
2. *Aqueous extract of black maca (Lepidium meyenii) on memory impairment induced by ovriectomy in mice*. Rubio, J. y W. Qiong, Liv. 2008.
3. *Aqueous and hydroalcoholic extract of black maca (Lepidium meyenii) improve scopolamine induced memory impairment in mice*. Rubio, J., Dong, H. y Gong, M. 2007, Food Chem Toxicol 45.
4. *Effect of Lepidium meyenii (maca) on spermatogenesis in male rats actely exposed to high altitude (4340m)*. Gonzales, S. E., Gasco, M. y Cordova, A. 1, 2004, Journal of Endocrinology, Vol. 180, págs. 87-95.
5. *Lepidium meyenii (maca) reduces spermatogenetic damage induced by a single dose of malation in mice Asian*. Bustos Obregon, E., Yucra, S. y Gonzales, G. F. 1, 2005, Journal of Andrology, Vol. 7, págs. 71-76.
6. *Dose-response of Lepidium meyenii (maca) aqueous extracts on testicular function and weight os different organs in adult rats*. Chung, F., y otros, y otros. 2005, Journal of Ethopharmacology, Vol. 98, págs. 143-147.
7. *Effect of three different cultivars of Lepidium meyenii (maca) on learning and depression in ovriectomized mice*. Rubio, J., Caldas, M. y Davila, S. 2006, BMC Complement Alten .
8. *Effect of different fractions from hydroalcoholic extract of black maca (Lepidium meyenii) on testicular function in adult male rats*. Yucra, S., y otros, y otros. 2008.
9. *Lepidium meyenii walp. Improves sexual behavior in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity*. Cicero, A. F., Bandieri, E. y A. Rietti, R. 2001, Journal of Ethnopharmacology, Vol. 75, págs. 225-229.
10. *Effect of a lepidic extract from Lepidium meyenii on sexual behavior in mice and rats*. Zheng, B. L., y otros, y otros. 4, 2000, Urology, Vol. 55, págs. 598-602.
11. *A pilot investigation into the effect of Maca supplementation on physical activity and sexual desire in sportsmenT*. Stone, M., y otros, y otros. 2009.
12. *Subjetive effects of Lepidium meyenii (maca) extract on well-being and sexual performances in patients with mild erectile dysfunction; a randomized, double- blind clinical trial*. Zenico, T., y otros, y otros. 2009, Journal of Andrology, Vol. 41, págs. 95-99.

13. *Beneficial effects of *Lepidium meyenii* on psychological symptoms and measures of sexual dysfunction in post menopausal women are related to estrogen or androgen content.* **Brooks, N. A., Willcox, G. y Walker, K. Z.** 2008.
14. *The invitro biological activity of *Lepidium meyenii* extracts.* **Veltanova, Katerina, Buckiaova, D. y V., Karen.** 2006, Cell Biol Toxicol 22, págs. 91-99.
15. *Red Maca (*Lepidim meyenii*) reduces prostate size in rats.* **Gonzales, G. F. y Nieto, I.** 2005, Reprod. Biol Endocrinol 3:5.
16. *Effect of black maca (*Lepidium meyenii*) on one spermatogenic cycle in rats.* **Gonzales, G. F., Nieto, J. y Rubio, J.** 2006, Andrologia 38, págs. 166-172.
17. *Effect of two different extracts of red maca in male rats with testosterone induced prostatic hyperplasia.* **Gonzales, G. F., Vasquez, V. y Rodriguez, D.** 2007, Asian J. Andrology, pág. 245.
18. **Lepidium peruvianum* Chacón restores homeostasis imparied by restraint stress.* **Lopez, Fando A., Gomez Serranillos y Lock, M. P.** 2004, Phytotherapy Research, Vol. 18, págs. 471-474.
19. *Neuro protective effects of *Lepidium meyenii*(Maca).* **Pino Figueroa, A. J., Guyen, N. y D. Maher, T. J.** 2010, Ann NY Acad Sci.
20. *Redistribution of CB1 cannabinoid receptors in the active and chronic phase of pilocarpine induced epilepsy.* **Karloca, Maria R. y Tóth, Kinga.** 2011.
21. **ILEA.** *Epilepsy Care in the World.* 2005.
22. **World Health Organization Epilepsy Foundation.** *Epilepsy - A manual for Medical and Clinical Officers in Africa.* 2002.
23. *Endogenous cannabinoid system in the brain; role in regulation of seizure activity.* **Shubina, L. V. y Kichignia, V. F.** 2012.
24. *Epileptic stimulus increases Homer 1a expression to modulate endocannabinoid signaling in cultured hippocampal neurons.* **Li, Y., Krogh, K. A. y Thayer, S. A.** Nov de 2012, Neuropharmacology.
25. *Limbic seizures produced bu pilocarpine in rats, a behavioural, electroencephalographic and neuropathological study.* **Turski, L.** 1983, Behav Brain Pes 9, págs. 315-335.
26. **Obregón Vilches, Lida.** *Maca planta medicinal y nutritiva del Peru.* 1997.
27. *Estudio fotoquímico y comparativo de tres ecotipos de *Lepidium meyenii* walp (maca) procedente de Carhuamayo (Junín).* **Cátedra de bromatología facultad de farmacia y bioquímica. Yllesca Gutierrez, María.** 1994, Universidad nacional mayor de San Marcos.

28. **ONG.** www.peruecologico.com.pe. [En línea] Perú Ecologico, 2012.
29. *La crónica del Perú. Ciega de Leon*, **Beltran, Pedro y Hamilton, S.** Lima - Perú : s.n., 1973, Ediciones Peisa .
30. **Rosas Portugal, Juan Guillermo.** *Determinación del efecto antioxidante in vitro del *Lepidium peruvianum* Chacón (maca).* 2003.
31. *Estudio Botánico y Químico de los Ecotipos amarillo y morado del *Lepidium peruvianum* Maca. Evaluación de su toxicidad aguda.* **Beltran, S. Hamilton, y otros, y otros.** 1997, Universidad Mayor San Marcos .
32. *Effect of red maca (*Lepidium meyenii*) on prostate zinc levels in rats with testosterone-induced prostatic hyperplasia.* **Gonzales , C. Leiva, Revilla, J. y Rubio, J.** 2012.
33. *Maca (*Lepidium meyenii*) for treatment of menopausal symptoms.* **Lee, M. S., Shin, B. C. y Yong, E. J.** Nov 70 (3) de 2011, A systematic review Maturitas , págs. 227-33.
34. *Therapeutic Effects of *Lepidium peruvianum* Chacon (Pre-Gelatinized Maca) used as a non-hormonal alternative to HRT in perimenopausal women.* **Meissner, H. O., y otros, y otros.** May de 2006, Clinical Pilot Study - International Journal of Biomedical Science , Vol. 2.
35. *Effect of *Lepidium meyenii* (maca) on female fertility in rats.* **Pino Figueroa, A. J. y Maher, T. J.** 2009, FASEB 23 , pág. 758.
36. *Fármacos Antiepilépticos In Farmacología* 6. **Rang, H. P. y Dale, M. M.** 40, Rio de Janeiro : s.n., 2007, Elsevier, págs. 575-587.
37. *Crisis convulsivas. Concepto, clasificación y etiología.* **Yusta Izquierdo, A.** 2005.
38. *Introduction to temporal lobe epilepsy.* **Engel, J. R. J.** 1996, Epilepsy Res, págs. 141 - 15.
39. *ILAE classification of epilepsy syndromes.* **Engel, Jerome J.** 2006.
40. *Psicose e Depressão na Epilepsia do Lobo Temporal.* **Kandrativicius, Ludmyla, Cecílio Hallak, Jaime Eduardo y Pereira Leite, Joao.** 2007.
41. *A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology.* **Engel, J. Jr.** 2001, International league Against Epilepsy (ILAE), págs. 796 - 803.
42. *Etiology as a risk factor for medically refractory epilepsy: a case for early surgical intervention.* **Engel, J. Jr.** 1998, Neurology.
43. *Epilepsia del Lóbulo Temporal con Esclerosis Mesial Temporal.* **Campanille, V. y Moschini, J.** 2004, Rev. Neurológica Argentina.
44. *Esclerosis temporal mesial.* **Valdivieso, COF, y otros, y otros.** 2005, Gac Méd Méx. , págs. 141(6):541-2.

45. *Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy.* **Pitkanen, A. y Sutula, T. P.** 2002, *Lancet Neurol.*
46. *Hippocampal sclerosis: progress since Sommer.* **Thom, M.** 2009, *Brain Pathol*, págs. 19(4):565-72.
47. **Andrade Machado, Rene.** *Epilepsia de lóbulo temporal.* Medellín - Colombia : s.n., 2011.
48. *Migración neuronal y enfermedades del desarrollo del sistema nervioso.* **Marin, Oscar.** 2009.
49. *Alteraciones de la migración neuronal; una forma de fármaco resistencia curable.* **Piñol, G. y Ripoli.** 2006.
50. **Sommer, W.** *Fundamentos neurobiológicos de la epilepsia.* [En línea] Ebooks, 1880. <http://books.google.com.pe>.
51. Fundación CANNA-Barcelona . [En línea] www.fundacion-canna.es.
52. *Endocannabinoids a new brain communication system. Dpto de bioquímica y biología molecular I.* **Guzman, Manuel.** 2010, Facultad de Ciencias Químicas-Universidad Computense de MADRID.
53. **Universidad Complutense de Madrid.** *Distribución de los receptores canabinoides en el cerebro. La intensidad del color muestra la mayor o menos cantidad de receptores.* [En línea] www.ucm.es/info/seic-web/documentos/.../9fisiogensistcannab09.ppt.
54. *Cannabinoid e sistema endocanabinoide.* **Grotenhermen, Franjo.** 2006, Hurth Germany.
55. *Exploracao farmacológica do sistema endocanabinoide, novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depresao.* **Viviane, M., y otros, y otros.** 1, Sao Paulo : s.n., 2010, Vol. 32.
56. *Sistema endocanabinoide modificando los factores de riesgo vascular.* **Jhon Edwin, Feliciano Alfonso.** 4, Bogota : s.n., 2006, *Rev fac med.*, Vol. 54.
57. *The endogenous cannabinoid system regulates seizure frequency and duration in a model of temporal lobe epilepsy.* **Wallace, Robert, Melisa, J. y Blair, Katherine.** Virginia : s.n., 2003, Department of Pharmacology and Toxicology.
58. *The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus.* **Krisztina, Monory, Messa, F. y Egertová, M.** 52, 2007, *Neuron*, Vol. 17, pág. 4.
59. *Epilepsia del lóbulo Temporal y las Neuronas Hipocampales de las Áreas CA1 y CA3.* **Stables, J. P., y otros, y otros.** 43(11):1410-20, 2002, *Epilepsia*.

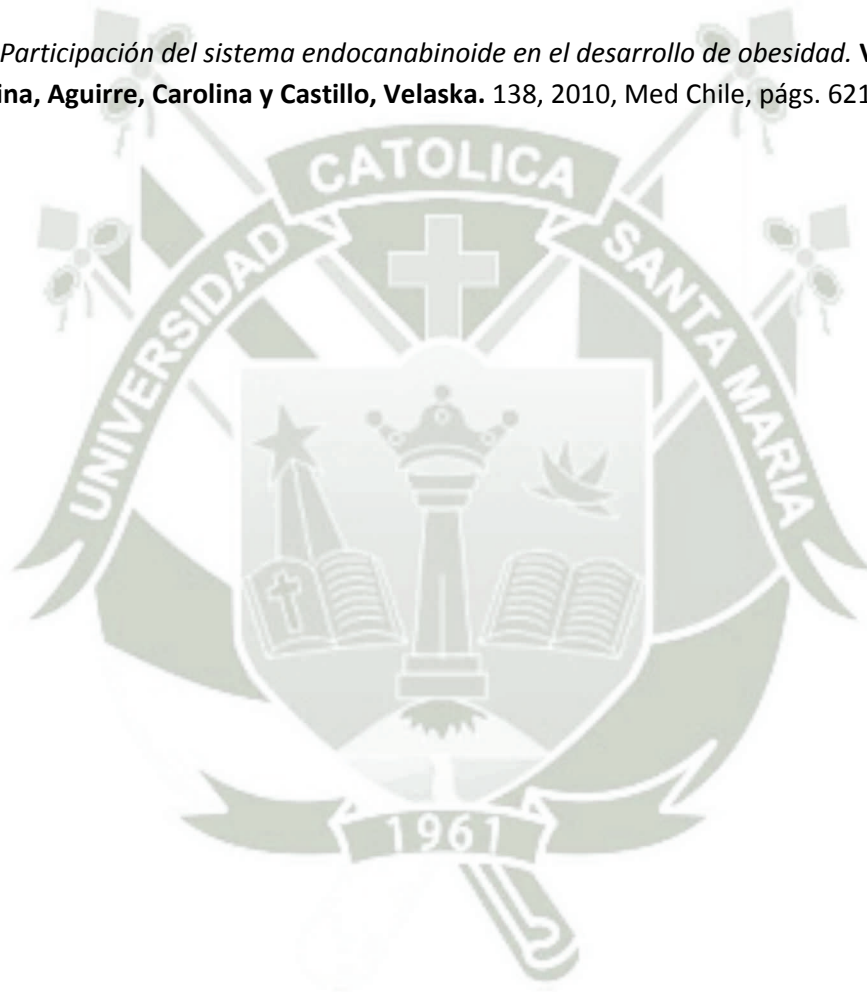
60. *The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy.* **Curia, G., y otros, y otros.** 172(2):143-57, 2008, J. Neurosci Methods .

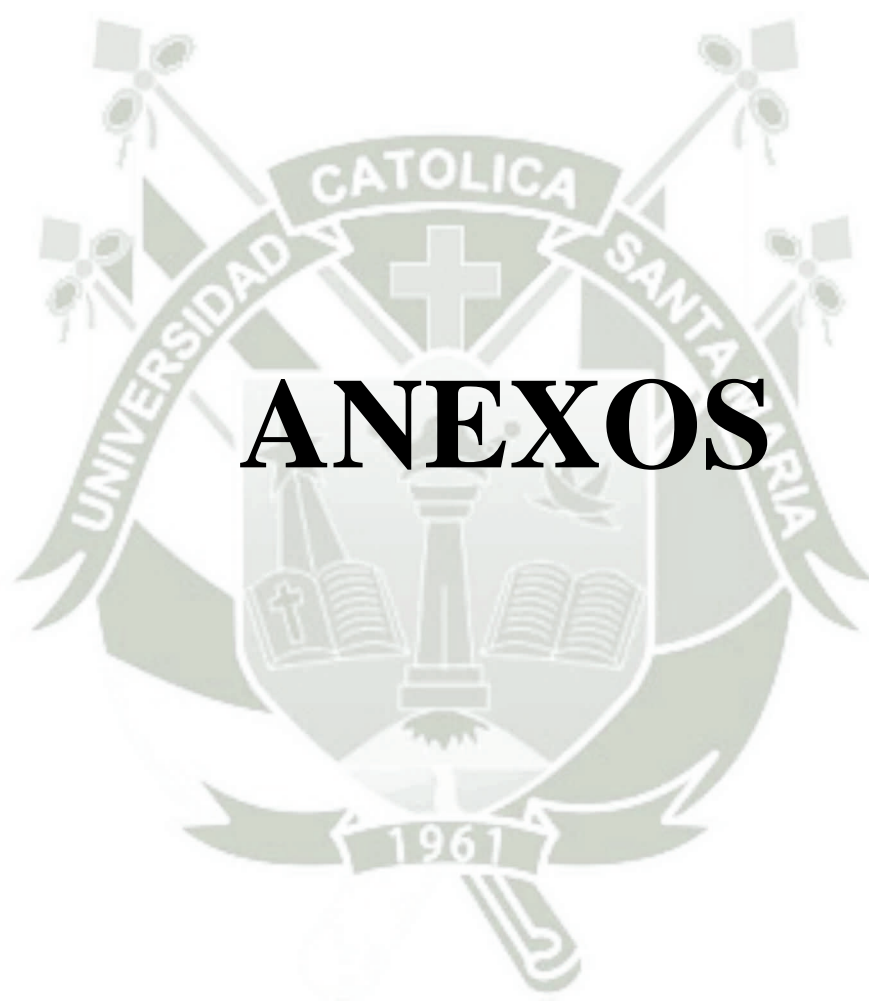
61. *Morphometry of hilar ectopic granule cells in the rat.* **Pierce, J. P., McCloskey, D. P. y Scharfman, H. E.** 519(6):1196-218, 2011, J. Comp Neurol .

62. *Chemical Profiling and Standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography.* **Ganzer, Markus, y otros, y otros.** 2002, Pharmaceutical Society of Japan.

63. **Aichi, Hospital de.** [En línea] 2) <http://www.docstoc.com/docs/119551453/Epilepsia-y-crisis-epil%EF%BF%BDpticas>.

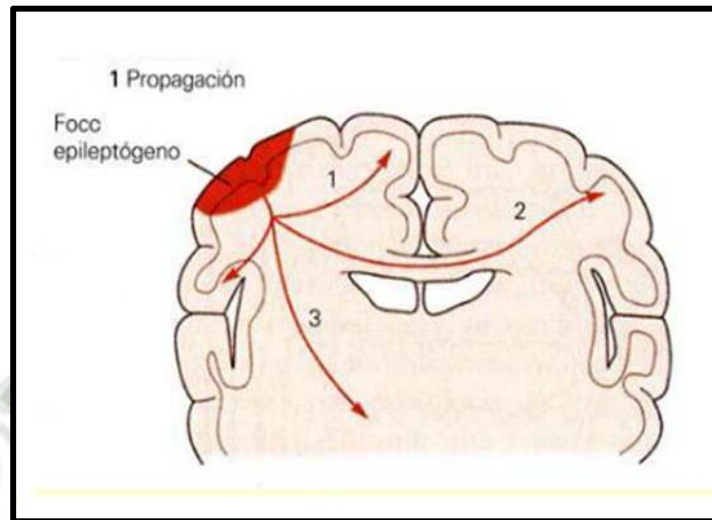
64. *Participación del sistema endocanabinoide en el desarrollo de obesidad.* **Valenzuela, Carina, Aguirre, Carolina y Castillo, Velaska.** 138, 2010, Med Chile, págs. 621-629.





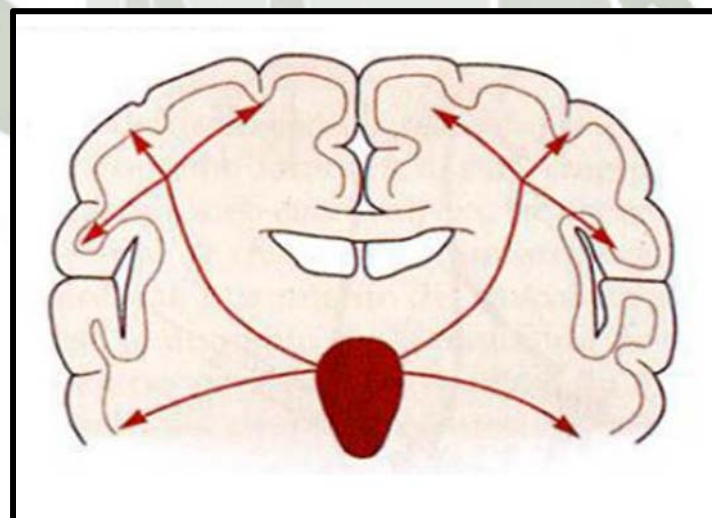
ANEXOS

Anexo 1: Crisis parcial y crisis parcial simple



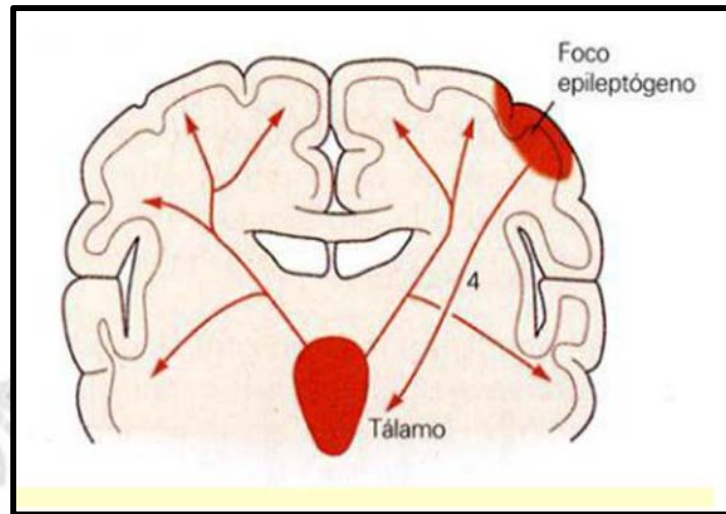
FUENTE: hospital de Aichi ⁽⁶³⁾

Anexo 2: Crisis parcial compleja



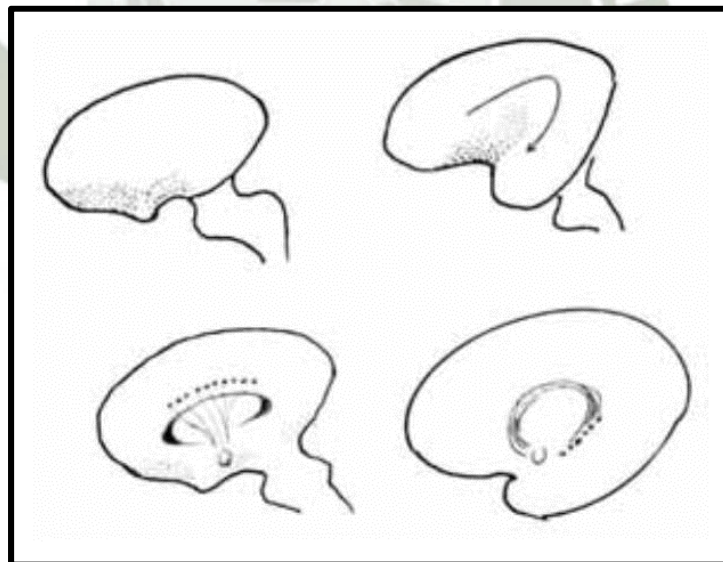
FUENTE: hospital de Aichi ⁽⁶³⁾

Anexo 3: Crisis parcial generalizada



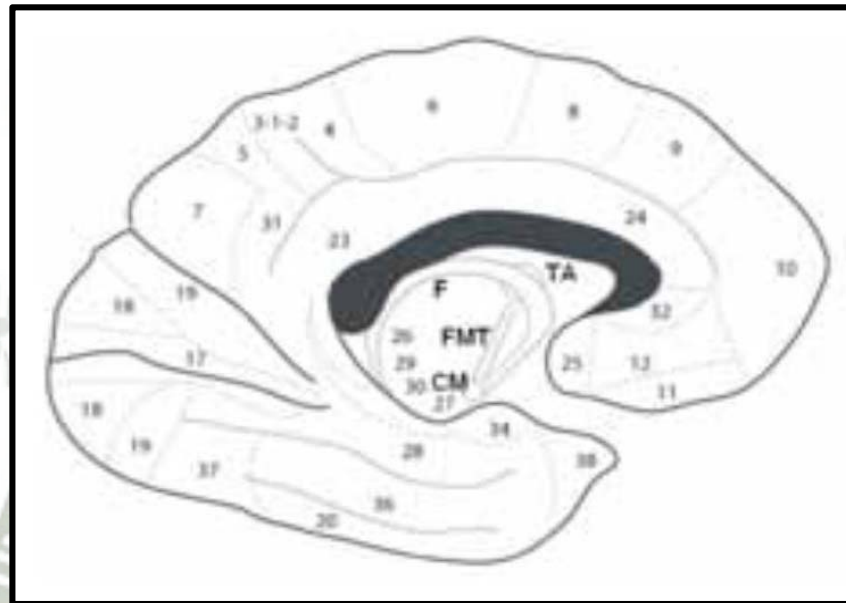
FUENTE: hospital de Aichⁱ⁽⁶³⁾

Anexo 4: Morfogénesis del lóbulo temporal



FUENTE: Epilepsia de lóbulo temporal – Andrade Machado, Rene et el., 2011⁽⁴⁷⁾

Anexo 5: Aspecto medial y lateral del lóbulo temporal



F: Fornix

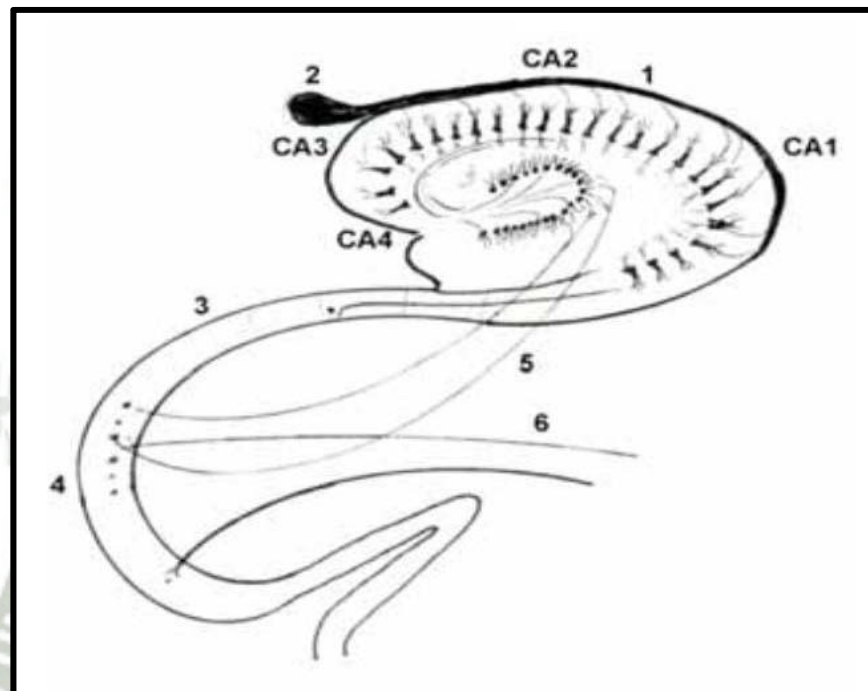
CM: Cuerpo mamilar

TA: Núcleos anteriores del Tálamo

FMT: Fascículo mamilotálamico

FUENTE: Epilepsia de lóbulo temporal – Andrade Machado, Rene et el., 2011⁽⁴⁷⁾

Anexo 6: Estructura y conexiones del hipocampo

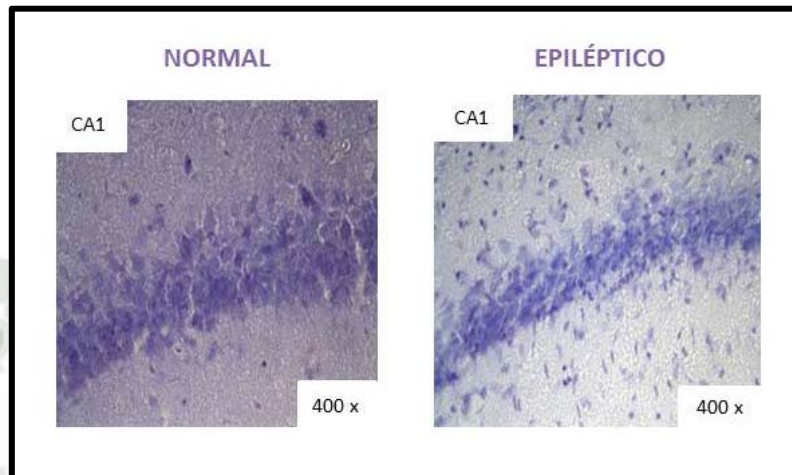


FUENTE: Epilepsia de lóbulo temporal – Andrade Machado, Rene et el., 2011

La siguiente imagen explica la estructura y conexiones del hipocampo:

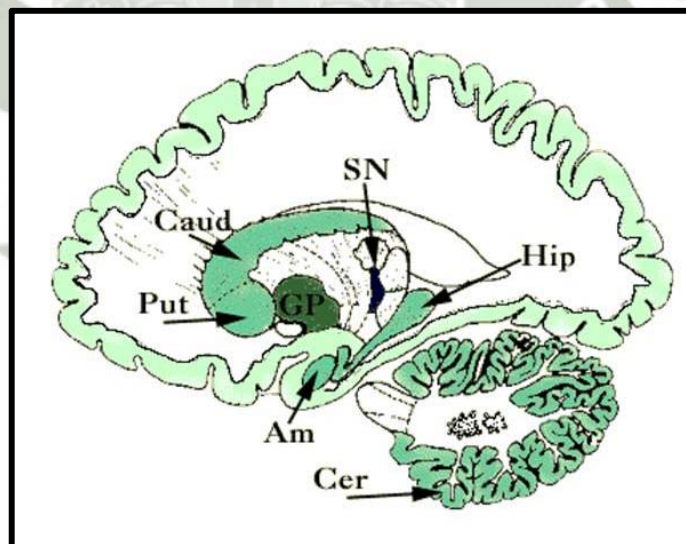
- (1) Alves.
- (2) Fimbria
- (3) Subículo.
- (4) Corteza entorrinal.
- (5) Fibras perforantes.
- (6) Vías aferentes

Anexo 7: Migración neuronal en el CA1



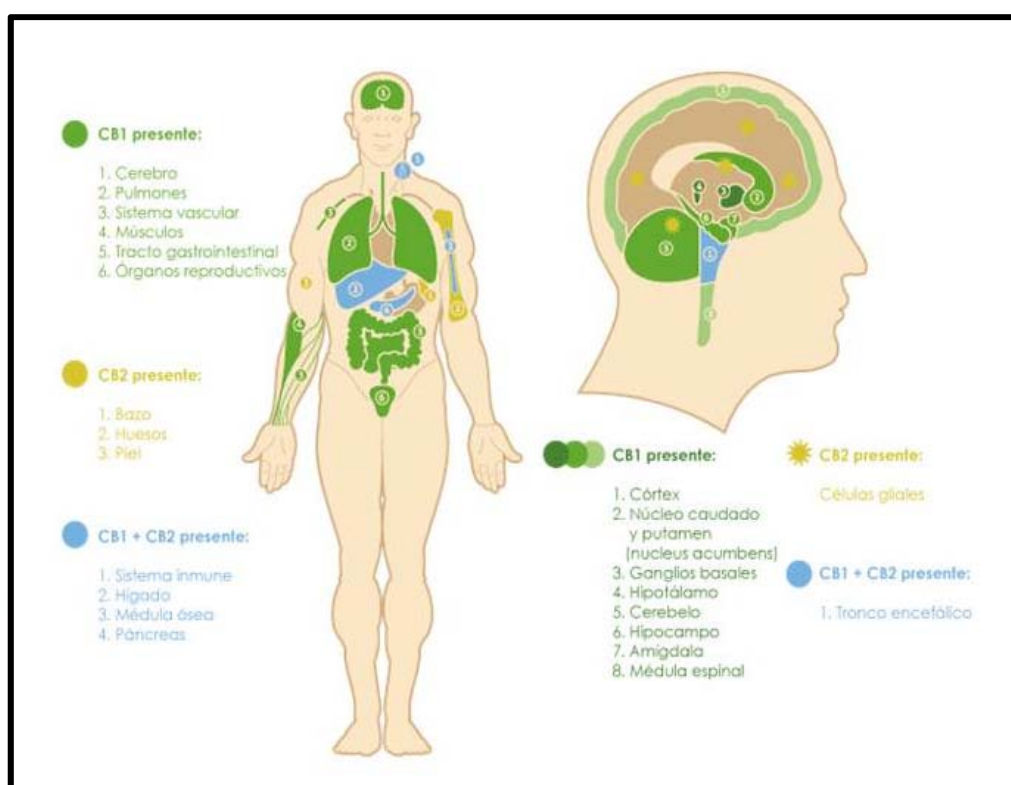
FUENTE: CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

Anexo 8: Distribución de los receptores cannabinoides en el cerebro



FUENTE: Valenzuela, Carina et al., 2010 ⁽⁶⁴⁾

Anexo 9: Distribución de los receptores endocannabinoides en el cuerpo



FUENTE: Fundación CANNA – Barcelona ⁽⁵¹⁾

Anexo 10: Biotério CETEC



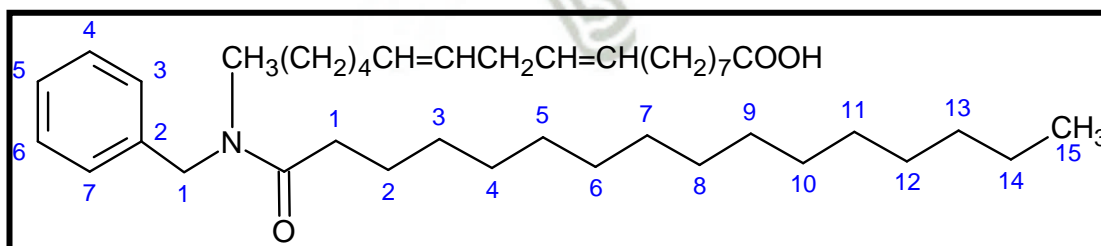
FUENTE: CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

Anexo 11: Sistema de vídeo



FUENTE: CETEC – São Paulo, Brasil, 2012

Anexo 12: Macamida con ácido linoleico



FUENTE: Elaboración propia - Software ChemsSketch

Anexo 13: Tabla de frecuencias de crisis por día

FRECUENCIA DE CRISIS POR DIA																	
Nº DIAS	CONTROLES					DOSIS DE 1 MG/KG					DOSIS DE 5 MG/KG						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	0	7	6	7	0	0	4	2	4	11	0	6	5	0	9	0	0
2	1	6	4	6	1	0	3	3	3	5	2	3	3	0	6	0	1
3	0	4	8	3	0	0	0	1	1	4	0	2	7	0	7	0	1
4	0	5	5	7	0	0	2	0	0	2	1	0	4	0	7	0	0
5	0	7	3	4	0	0	2	2	2	2	0	3	5	0	9	0	0
6	0	3	7	6	0	0	3	3	3	0	0	5	3	0	6	0	0
7	7	8	4	5	0	2	0	1	1	1	0	5	5	4	7	0	1
8	6	3	5	4	0	1	2	0	0	1	0	5	3	4	7	0	0
9	9	7	8	5	0	1	2	4	3	0	1	7	2	5	9	0	0
10	9	8	7	7	2	0	3	3	4	0	0	6	3	6	6	0	0
11	8	0	2	0	0	2	0	0	0	2	0	6	0	4	0	0	10
12	9	0	2	0	0	1	0	0	0	1	0	6	3	5	2	0	0
13	9	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	7	3	5	0	0	0
14	8	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	5	0	4	1	0	0
15	6	0	0	1	0	1	2	0	2	1	0	5	2	6	1	0	0
16	7	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0	7	0	5	1	0	0
17	8	0	0	0	0	4	0	1	0	0	0	0	0	5	0	0	0
18	7	0	0	1	0	3	0	2	2	2	0	0	0	6	2	1	0
19	4	0	0	0	1	4	0	0	0	1	0	5	0	3	2	0	0
20	5	1	1	1	1	2	1	2	1	2	0	5	5	7	6	0	0
21	3	8	7	8	0	4	4	5	1	3	0	7	5	5	7	0	0
22	5	7	5	9	0	3	3	4	3	2	0	6	6	3	7	0	0
23	6	6	8	5	1	4	4	0	0	0	0	6	3	6	5	0	0
24	5	8	6	7	7	2	0	4	4	2	3	6	3	4	6	3	2
25	7	5	9	6	5	0	3	0	3	2	1	7	5	6	5	4	4
26	8	7	8	8	9	3	1	3	0	2	3	5	7	5	7	6	6
27	0	8	6	6	5	0	0	2	1	1	0	5	6	0	6	2	2
28	3	5	5	9	9	0	2	0	0	0	2	7	9	1	4	3	3
29	0	6	7	7	6	1	3	1	2	1	3	2	8	1	4	4	6
30	0	3	6	7	7	2	2	2	2	0	3	5	7	0	6	6	5
31	1	6	4	5	8	0	2	2	3	0	2	4	3	2	3	5	4
ME DIA	4,33	4,26	4,29	4,32	2,10	1,33	1,38	1,33	1,48	1,38	0,68	4,77	3,71	3,29	4,77	1,10	1,43
DS	3,43	3,03	3,01	3,12	3,09	1,43	1,41	1,50	1,41	2,14	1,11	2,09	2,53	2,40	2,81	1,96	2,47
MAX	9	8	9	9	9	4	4	5	4	11	3	7	9	7	9	6	10
MIN	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010

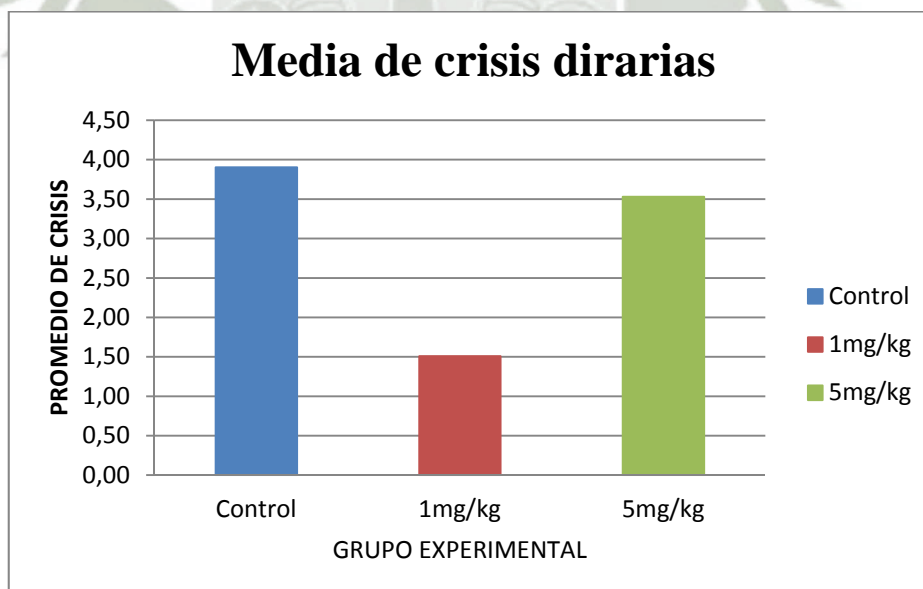
Anexo 14: Tabla de frecuencia de crisis por 31 días de tratamiento

	Control	1mg/kg	5mg/kg
	4,55	1,35	4,77
	4,26	1,58	3,71
	4,29	1,55	3,29
	4,32	1,48	4,77
	2,10	1,58	1,10
		0,68	1,45
MEDIA	3,90	1,51	3,53
DS	1,02	0,10	1,51
MAX	4,55	1,58	4,77
MIN	2,10	1,35	1,10

	Control	1mg/kg	5mg/kg
MEDIA	3,90	1,51	3,53
DS	1,02	0,10	1,51

FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010

Anexo 15: Figura de la frecuencia de crisis por 31 días de tratamiento



FUENTE: Elaboración propia. Microsoft Excel 2010