



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

“Evaluación conductual de los extractos metanólico y acetónico de la *Heterotheca inuloides*, en las crisis convulsivas durante el estado epiléptico inducidas por el ácido kaínico”

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:**  
**Arias Peña Nadia Cristina**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN:**  
**Pediatría**

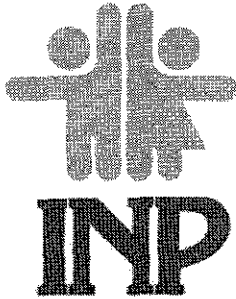
**Tutores:**

**Dra. Lilitana Carmona Aparicio**

**Co-Tutores:**

**Dra. Elvia Coballase Urrutia**

**Dra. Sydney R. Greenawalt Ramírez**



**Ciudad de México, Febrero 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

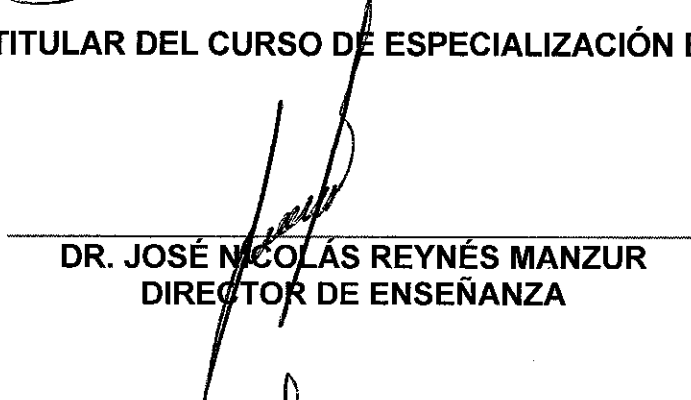
**"Evaluación conductual de los extractos metanólico y acetónico de la *Heterotheca inuloides*, en las crisis convulsivas durante el estado epiléptico inducidas por el ácido káinico"**



---

**DR. ALEJANDRO SERRANO SIERRA**

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA**



---

**DR. JOSÉ NICOLÁS REYNÉS MANZUR  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**



---

**DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**



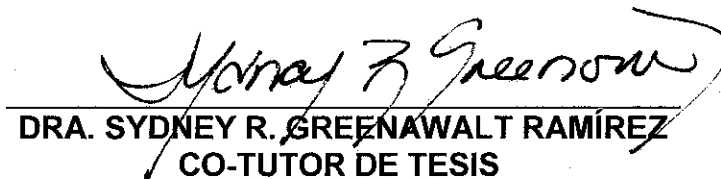
---

**DRA. LILIANA CARMONA APARICIO  
TUTOR DE TESIS**



---

**DRA. ELVIA COBALLASE URRUTIA  
CO-TUTOR DE TESIS**



---

**DRA. SYDNEY R. GREENAWALT RAMÍREZ  
CO-TUTOR DE TESIS**

## APOYOS

**Este trabajo es derivado del Protocolo de investigación con número de registro del Instituto Nacional de Pediatría 016/2014.**

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradecer a Dios por bendecirme con inteligencia y salud para llegar hasta donde estoy. Por darme una familia enorme y amorosa, que me apoyó incondicionalmente, principalmente mis papas Nadia Peña y Carlos Arias por sus sabios consejos. Agradezco a mi gemela Alicia Arias por venir a estudiar la especialidad conmigo, y por siempre estar a mi lado. A mis hermanos Alejandra y Carlos Arias, mis Abuelitas Ana y Ofelia, mis tíos Ana y Jose Inzunza, mis tíos Peña Luna, mis tíos Elena y Carlos Vega junto con toda la familia por estar en los momentos más importantes de mi vida. Así como a mi tío Gustavo Arias que en paz descansa.

Doy gracias por un esposo comprensivo, que en todo momento estuvo dándome ánimo, así como mi suegra Lourdes Pérez. Por los seres humanos increíbles que llegaron a mi vida, como la Familia Landeros, mis amigas Saraí González y Alejandra Villicaña, que me abrieron las puertas de su casa y me adoptaron. Por mis mejores amigas, Edna, Isis, Stella, Libertad, Paola, Gisela, Paty, Ericka, que a pesar de la distancia siempre me procuraron.

Gracias por permitirme estudiar en uno de los mejores Hospitales del país, y rodearme de personas de provecho, como mis compañeros residentes y subespecialistas, con los cuales formamos una gran familia; adscritos de todos los servicios, los cuales siempre se preocuparon por nuestro aprendizaje y fueron un pilar importante en nuestra formación; Rocio Jasso y toda la dirección de Enseñanza, que estuvieron al pendiente de nosotros; Georgina Mondragón y todo el equipo de Nestlé que nos apoyó con conferencias, patrocinios y becas para la rotación Internacional en el Hospital Infantil de Filadelfia, en Estados Unidos.

Y finalmente, gracias a la Doctora Liliana Aparicio, por permitirme participar al lado de ella en un proyecto de investigación básica aplicada a la clínica, fue un placer trabajar con todo su equipo, gracias por toda la paciencia y por sus consejos.

<b>INDICE</b>	<b>Pagina</b>
Lista de abreviaturas	8
RESUMEN	9
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Generalidades de la epilepsia</b>	<b>11</b>
1.1.1. Definición y conceptos	11
1.1.2. Epidemiología	12
1.1.3. Etiología	13
1.1.4. Fisiopatología	14
1.1.5. Clasificación	15
1.1.6. Epilepsia del lóbulo temporal	16
1.1.7. Tratamiento	17
1.1.8. Epilepsia refractaria	21
1.1.9. Estado epiléptico	22
1.1.10. Modelo experimentales	24

<b>1.2. Generalidades de la <i>Heterotheca inuloides</i></b>	25
1.2.1. Usos	26
1.2.2. Clasificación taxonómica	27
1.2.3. Característica de la planta	27
1.2.4. Ubicación geográfica	28
1.2.5. Propiedades químicas y farmacológicas	28
1.2.6. Efectos biológicos y sus mecanismos de acción a nivel central	28
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	29
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	29
<b>4. HIPÓTESIS</b>	30
<b>5. OBJETIVOS</b>	30
5.1. Objetivo general	30
5.2. Objetivos específicos	30
<b>6. TIPO DE ESTUDIO</b>	30

<b>7. MATERIALES Y METODOS</b>	30
7.1. Población de estudio	30
7.2. Criterios de selección	31
7.3. Animales de experimentación	31
7.4. Ubicación del estudio	31
7.5. Variables de muestra y tamaño del estudio	32
7.5.1 Variables dependientes	32
7.5.2 Variables independientes	32
7.6. Administración de <i>Heterotheca inuloides</i>	34
7.7. Administración de ácido kaínico	34
7.8. Evaluación conductual	34
7.9. Análisis estadístico	35
<b>8. RESULTADOS</b>	35
8.1. Inducción de crisis convulsivas por administración sistémica de ácido kaínico (10 mg/Kg, i.p.)	35

8.2. Efecto de la administración del extracto metanólico y acetónico de <i>Heterotheca inuloides</i> (30, 100, 300 mg/Kg, i.p.), en la latencia de las crisis convulsivas inducidas por ácido kainico.	37
8.3. Efecto de la administración del extracto metanólico y acetónico de <i>H. inuloides</i> (30, 100, 300 mg/Kg, i.p.), en la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kainico.	38
<b>9. DISCUSIÓN</b>	41
<b>10. CONCLUSIONES</b>	43
<b>11. REFERENCIAS</b>	44



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AMPA:</b>	Receptor Alfa amino-3-hidroxi-5-metil 4-isoxazolepropionico
<b>ANOVA:</b>	Análisis de varianza
<b>Ca<sup>2+</sup>:</b>	Calcio
<b>Cl:</b>	Cloro
<b>FAEs:</b>	Fármacos antiepilépticos
<b>GABA:</b>	Acido gamma aminobutírico
<b>gr.:</b>	Gramos
<b><i>H. inuloides:</i></b>	<i>Heterotheca inuloides</i>
<b>ILAE:</b>	"International League Against Epilepsy"
<b>i.p.:</b>	Intraperitoneal
<b>K<sup>+</sup>:</b>	Potasio
<b>LICE:</b>	Liga Internacional Contra la Epilepsia
<b>min:</b>	Minuto
<b>mg/kg:</b>	Miligramo por Kilogramo
<b>n:</b>	Número
<b>Na<sup>+</sup>:</b>	Sodio
<b>NMDA:</b>	Receptor N-metil-D-Aspartato
<b>NOM:</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>p:</b>	Probabilidad
<b>PPSE:</b>	Potenciales postsinápticos excitadores
<b>RM:</b>	Resonancia magnética
<b>SNC:</b>	Sistema Nervioso Central
<b>Sx:</b>	Síndrome
<b>TAC:</b>	Tomografía axial computarizada
<b>UNAM:</b>	Universidad Nacional Autónoma de México

## RESUMEN

Antecedentes: La epilepsia se define como un trastorno del cerebro que se caracteriza por una predisposición duradera para generar crisis epilépticas, y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales que condiciona. Es la enfermedad neurológica crónica más frecuente en el mundo, con predominio en países en desarrollo por factores nutricionales, infecciosos, traumáticos y perinatales, con predisposición por los extremos de la vida, en la infancia ocupa el segundo lugar de frecuencia entre las enfermedades neurológicas, solo por debajo del retraso mental. Es considerada como un problema de salud pública por parte de la Organización Mundial de la Salud. En México afecta aproximadamente a 1.5 millones de habitantes, y se observa una prevalencia en la población infantil de 12 hasta 23 casos por cada 1000, lo que la hace la primera causa de consulta en el servicio de Neurología de nuestro Instituto. El tratamiento se basa en fármacos antiepilépticos y un manejo integral para el paciente y su familia, que contemple el desarrollo de habilidades cognitivas, deportivas, laborales y emocionales. Sin embargo el 30% de estos pacientes no responderá con la administración de múltiples fármacos antiepilépticos, y del 5 al 27% pueden presentar al menos un episodio de estado epiléptico durante el curso de la enfermedad, con una tasa de secuelas del 4 al 40%, y esto aumenta el riesgo de mortalidad.

Es de suma importancia la búsqueda de nuevos tratamientos alternativos a los fármacos antiepilépticos para el control adecuado de las crisis convulsivas, lo que, derivará a la mejora de calidad de vida tanto de ellos como de su familia, por lo que el estudio de nuevos agentes de origen natural, basados en el uso de plantas medicinales en modelos experimentales es una herramienta para abordar esta problemática.

Objetivo: El propósito de este trabajo fue evaluar la respuesta conductual de los extractos metabólico y acetónico de *H. inuloides* en las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico. Con el fin de proponer sustancias de origen natural, que presenten efectos sobre la modulación de la neurotransmisión, como el árnica

(*H. inuloides*), una planta muy utilizada en nuestro país, a la cual se le han atribuido múltiples efectos terapéuticos, entre ellas antiinflamatorias, antimicrobianas, analgésicas y antioxidantes.

Metodología: Este fue un estudio experimental, prospectivo, analítico y comparativo. Se administró vía oral, los extractos metanólico y acetónico de *H. inuloides* en diferentes concentraciones (30, 100 y 300 mg/Kg), a grupos aleatorios de 6 ratas macho, sanos, cepa Wistar 3 días antes del experimento, el cual consistió en inducir crisis convulsivas por medio de la administración intraperitoneal de ácido kaínico (AK; 10 mg/kg). Se observaron los cambios conductuales de los sujetos de experimentación tras la administración de AK, durante 4 horas, y se evaluó el tiempo de inicio (latencia) y severidad de las crisis por medio de la clasificación conductual para las crisis epilépticas, descrita en la escala de Racine, además de monitorizar el tiempo de inicio de las crisis epilépticas inducidas por este agente químico. Al finalizar el experimento los sujetos de experimentación fueron sacrificados, estas actividades se desarrollaron en las instalaciones del laboratorio de Neurociencias de la Torre de Investigación de nuestro Instituto.

Resultados: Posterior a la administración de los extractos metanólico y acetónico de *H. Inuloides*, se observó un aumento en la latencia de las crisis inducidas con ácido kaínico, sin embargo no presentaron diferencias estadísticamente significativas. En cambio se observa una disminución en la severidad de las mismas de acuerdo a la escala de Racine, que en el caso del extracto metanólico fue dependiente de la dosis.

Conclusiones: Los extractos metanólico y acetónico de *H. inuloides* al modifican la latencia y la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico. Es importante mencionar que estos proyectos de investigación con agentes naturales con propiedades antioxidantes y neuroprotectoras pueden ofrecer un tratamiento alternativo, para el 30% de los pacientes con epilepsia que no logran buen control con fármacos antiepilépticos.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Generalidades de la epilepsia**

#### **1.1.1. Definición y conceptos**

La palabra epilepsia tiene origen en la raíz griega *epilambanein*, que significa ser atacado o ser tomado por sorpresa. (1)

Es una enfermedad del sistema nervioso central caracterizada por la predisposición a presentar crisis epilépticas recurrentes, no provocadas por una lesión neurológica o sistémica aguda. Son debidas principalmente por un incremento y sincronización anormal de la actividad eléctrica neuronal, que puede manifestarse por crisis recurrentes, espontáneas, excesivas e impredecibles, conocidas como crisis epilépticas. (1-4)

El término crisis epiléptica hace referencia a un episodio paroxístico, autolimitado en el tiempo, en el que existe un cambio conductual, alteraciones motoras, sensoriales, vegetativas con o sin disminución de la consciencia que son debidas a sincronías, alteraciones y disparos rítmicos de una población de neuronas corticales. (1-3) El síndrome epiléptico se refiere al conjunto de síntomas y signos que definen un proceso epiléptico no simplemente por el tipo de crisis, sino también por su historia natural, que incluyen una o varias causas reconocidas, la predisposición hereditaria, anomalías en el electroencefalograma (EEG), aspectos anatómicos, edad, gravedad, cronicidad, respuesta al tratamiento y pronóstico. (1,3,4)

La definición conceptual de epilepsia según la Liga Internacional contra la Epilepsia (LICE) es un trastorno del cerebro que se caracteriza por una predisposición duradera para generar crisis epilépticas, y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales que condiciona. La definición requiere de al menos una crisis epiléptica. La definición operacional práctico-clínica hace referencia a una enfermedad del cerebro definida por una de las siguientes condiciones: a) al menos dos crisis convulsivas no provocadas que ocurran con más de 24 horas de intervalo; b) una crisis convulsiva no provocada y

la probabilidad de futuras crisis similares al riesgo general de recurrencia (60%) después de 2 crisis no provocadas, que ocurran en los siguientes 10 años; y c) diagnóstico de un síndrome epiléptico. (4,5)

Es importante diferenciar entre epilepsia y una crisis convulsiva, debido a que la primera requerirá tratamiento crónico, con fármacos antiepilépticos o terapias alternativas, mientras que el evento único requerirá de tratamiento dependiendo de la causa que la haya provocado. (2,3)

Múltiples factores contribuyen a la comorbilidad y afectan de forma individual y conjunta los aspectos de desarrollo, proceso cognitivo, psicosocial y calidad de vida en los niños con epilepsia. Los principales son problemas de conducta, dificultad para el aprendizaje, déficit de atención e hiperactividad, autismo, depresión, ansiedad y otras alteraciones psiquiátricas, daño cerebral estructural, retraso mental y espasticidad. (5-7,12,14)

### **1.1.2. Epidemiología**

La epilepsia es la enfermedad neurológica crónica más frecuente en el mundo, afecta aproximadamente al 1% de la población total y cerca de 10.5 millones son pacientes de edad pediátrica. Es la tercera causa de trastorno neurológico, superada por retraso mental y parálisis cerebral; a pesar de ser la única tratable, es la primera causa neurológica de defunción. (1,8-10,13,15,16) Una sola crisis convulsiva no significa epilepsia, pues alrededor del 10% de la población puede presentarla en algún momento de su vida, y solo del 1 al 3% desarrollarán la enfermedad. (1,8)

Afecta entre 50 y 70 millones de personas en el mundo, el 25% son niños. Según estudios, aproximadamente 40 de cada 100,000 habitantes de países industrializados desarrollarán algún tipo de epilepsia de nuevo inicio cada año, esta cifra se duplica en países subdesarrollados, probablemente por la ausencia de programas de salud efectivos que garanticen condiciones de higiene, prevención de factores de riesgo perinatales como enfermedad hipóxico-isquémica, infecciosos por bacterias y parásitos, nutricionales y traumáticos principalmente cráneo-encefálicos. (1,5,8-10,12,13,16,17).

Es considerada como un problema de salud pública, debido a que es una enfermedad frecuente, crónica, que puede llegar a ser incapacitante, y que *per se*, conlleva consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales, las cuales derivan en un impacto social y económico. En México se calcula una prevalencia infantil para esta enfermedad de 12 a 44 casos por cada 1000 habitantes, y en el Instituto Nacional de Pediatría es la primera causa de consulta neurológica. (5,12,13,16,17)

La epilepsia se puede tratar con fármacos específicos, un 70% tendrá éxito en el control de la enfermedad y aproximadamente el 20-30% presenta refractariedad a pesar del tratamiento, lo que trae como consecuencia daño físico en el paciente y disfunción psicosocial. Esto a pesar de que en las últimas dos décadas se han aprobado más de doce fármacos antiepilépticos, por lo que la farmacoresistencia es una prioridad terapéutica. (1,5,8-11)

Las personas con epilepsia tienen un riesgo de morir considerablemente mayor que al de la población general. La tasa de mortalidad anual es de 1 a 8 muertes por cada 100,000 habitantes, esto depende de cada país. De los pacientes con diagnóstico establecido, el 5 al 27% presentaran estado epiléptico en algún momento de su vida, con una tasa de secuelas del 4 al 40%, y una tasa de mortalidad para esta complicación del 3% en pacientes pediátricos. (12,18-20)

### **1.1.3. Etiología**

La epilepsia no es contagiosa, es de etiología multifactorial, dada por el umbral, la anormalidad epileptogénica, y los factores desencadenantes. La causa más frecuente es la idiopática, en un 60-80% de los casos, pues no se identifican antecedentes o factores de riesgo. El otro 20% restante tienen causa conocida y se denomina secundaria o sintomática, la mayoría son causadas por daño cerebral como lesiones prenatales o perinatales, malformaciones congénitas o alteraciones genéticas con malformaciones cerebrales asociadas; así como por traumatismo craneoencefálico; accidente cerebrovascular que limita la llegada de oxígeno al cerebro; infecciones cerebrales como meningitis, encefalitis o cisticercosis; algunos síndromes genéticos o tumoraciones cerebrales. (1,5,8,12)

#### 1.1.4. Fisiopatología

Se ha descrito que las crisis convulsivas se desencadenan debido a múltiples causas, en general son consecuencia de un desequilibrio de la inhibición-excitación en el Sistema Nervioso Central. Específicamente cambios paroxísticos de despolarización (electrofisiológicas); anomalías anatómicas, histológicas, ultraestructurales (morfológicas); alteración en la regulación de neurotransmisores y receptores (neuroquímicos); alteración en la concentración de sodio y potasio, de la actividad de la bomba sodio/potasio o de otros tipos de corrientes iónicas; alteraciones metabólicas o endocrinológicas. (47)

Aunque existen otros factores importantes que favorecen la hiperexcitabilidad neuronal, estos son el volumen de espacio intracelular y las propiedades intrínsecas de una neurona, las corrientes iónicas. Por ejemplo los iones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  son responsables de la despolarización neuronal, y los iones de  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  tienen tendencia a la hiperpolarización. (46, 48)

Los potenciales de acción que viajan a través del axón y en la terminal presináptica producen entrada de Calcio en la célula, esto desencadena la liberación de neurotransmisores que se acoplan a su receptor de membrana postsináptico produciendo ya sea potenciales postsinápticos excitadores o inhibidores. La suma de estos potenciales da lugar a la actividad eléctrica que se registra en el electroencefalograma y que en epilepsia es alterada en favor de la respuesta excitadora. (46, 48)

Los principales neurotransmisores excitadores del Sistema Nervioso Central son Glutamato (agonista de los receptores ionotrópicos AMPA-Kainato, Delta, y NMDA, con actividad sináptica rápida, así como de los metabotrópicos mGlu1 al mGlu8, los cuales median la actividad sináptica lenta pero prolongada) y Aspartato, mientras que el Ácido Gamma-Aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio (con receptores ionotrópicos y metabotrópicos), otros ejemplos de este mismo grupo son la glicina y la taurina. (46, 48)

En condiciones normales, la hiperexcitabilidad de la neurona se evita por la presencia de una cantidad normal de hiperpolarizaciones y la presencia de

neuronas inhibitoras. Actualmente se propone que en el inicio de la propagación de la descarga paroxística intervienen la capacidad de un grupo de neuronas para generar la descarga; la capacidad del sistema excitador glutamatérgico (iniciando activación de los receptores de AMPA, sin embargo a medida que el ataque epiléptico se intensifica, se produce mayor participación de los receptores NMDA), para amplificar la señal generándola y propagándola, mediante la generación de potenciales post-sinápticos excitadores (PPSE); la capacidad del sistema inhibitor GABAérgico para regular la activación de los receptores NMDA e impedir la génesis de la descarga y controlar su propagación intracerebral, mediante la generación de potenciales post-sinápticos inhibitoros. (46-48)

Se sugiere que la actividad de tipo epiléptico depende de la interacción de los receptores AMPA y NMDA, pues los antagonistas del receptor NMDA parecen reducir significativamente la intensidad y la duración del ataque, mientras que los antagonistas del receptor AMPA previenen su inicio. (46-48)

### **1.1.5. Clasificación**

De acuerdo a la Clasificación operacional de las crisis convulsivas del 2016, por Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE por sus siglas en inglés) se clasifican en base al tipo de crisis en: (21)

#### ➤ **Focales:**

a) Motoras: tónicas, atónicas, mioclónicas, clónicas, espasmos epilépticos, hipermotoras.

b) No motoras: sensoriales, cognitivas, emocionales, autonómicas.

c) Con estado de alerta: consciente, alteración de la conciencia, pérdida del estado de alerta.

d) Tónico-clónicas bilaterales.

#### ➤ **Generalizadas**

a) Motoras: tónico-clónicas, tónicas, atónicas, mioclónicas, mioclónicas-atónicas, clónicas, clónico-tónicas-clónicas, espasmos epilépticos.

b) Ausencia: típicas, atípicas, mioclónicas, mioclónicas del parpado.

#### ➤ **Inicio desconocido**



a) Motoras: tónico-clónicas, tónicas, atónicas, espasmos epilépticos.

No motoras

- b) Con estado de alerta: consciente, alteración de la conciencia, pérdida del estado de alerta.
- c) No Clasificadas.

### **1.1.6. Epilepsia del lóbulo temporal**

Definida por la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) en 1985 como un trastorno caracterizado por crisis focales simples, complejas con o sin generalización secundaria, originadas en la porción medial o lateral del lóbulo temporal. (22) Es de gran importancia debido a que es una de las causas más prevalentes y complejas. Corresponde al 40% de los casos de epilepsia, tiene una alta incidencia en la edad pediátrica de 33 a 82 casos por cada 100,000 niños al año, y aproximadamente 50 a 60% de estos se presentan inicialmente con crisis focales. (22,23)

Las causas más frecuentes en niños con este tipo de epilepsia son: esclerosis mesial temporal, tumores de bajo grado, displasia cortical, malformaciones vasculares, isquemia o gliosis secundarias a hipoxia, traumatismo o infecciones. (22, 23)

La semiología de las crisis varía con la edad del paciente, los lactantes presentan crisis generalizadas, manifestaciones motoras bilaterales simétricas, aunque su origen sea unilateral, lo que hace más difícil su diagnóstico. En niños preescolares predominan posturas distónicas, lateralización de la cabeza, desviación de la mirada y de la comisura labial, además de automatismos oro-alimentarios. Niños mayores y adolescentes presentan además de automatismo, pródromos o aura, síntomas viscerales y manifestaciones autonómicas. Dependiendo de las características de inicio de la crisis y su evolución es como se puede determinar donde se origina el foco epileptógeno. (22, 23)

El electroencefalograma presenta frecuentemente actividad epiléptica interictal, la más descrita se caracteriza por puntas u ondas agudas temporales y actividad delta rítmica intermitente. La resonancia magnética ha demostrado ser

altamente sensible en la detección de esclerosis hipocampal, además de su utilidad para detectar tumores y atrofia estructural. (23)

Aunque hay una amplia gama de fármacos antiepilépticos, ninguno ha demostrado mayor eficacia en el control de las crisis convulsivas focales. Muchos pacientes continúan presentando crisis aun con el tratamiento adecuado. El 40% de los pacientes con epilepsia focal serán eventualmente refractarios a tratamiento farmacológico, factores de riesgo para esto son la presencia de una lesión conocida, alta frecuencia de las crisis, anormalidades neurológicas, edad temprana, crisis febriles, estado epiléptico, hallazgos multifocales en el electroencefalograma. (22,23)

#### **1.1.7. Tratamiento**

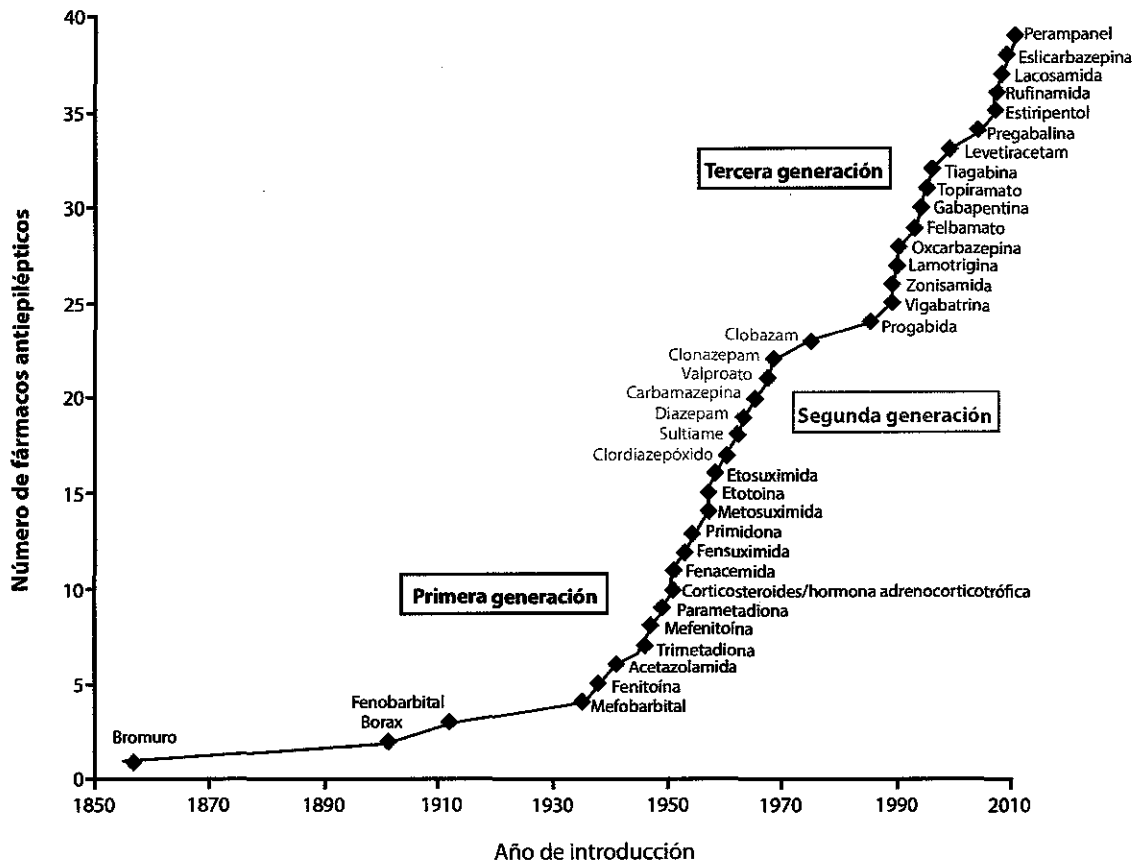
El tratamiento de la epilepsia se basa en el uso de fármacos antiepilépticos (FAEs) principalmente, además de un manejo integral para obtener mejores resultados. Por ejemplo, promover hábitos higiénico-dietéticos (realizar ejercicio, hidratarse, consumir una alimentación balanceada, mejorar patrón de sueño, realizar actividades relajantes) y tratar de evitar factores desencadenantes (no consumir bebidas alcohólicas, ni drogas, evitar foto-estimulación por medio de televisión o videojuegos). Todo esto con el fin de controlar las crisis, mejorar la calidad de vida del paciente y su familia, así como promover el desarrollo de habilidades cognitivas, deportivas, laborales y emocionales. (24)

Para seleccionar el fármaco antiepiléptico adecuado, se requiere individualizar cada caso. Después hacer el diagnóstico de epilepsia, clasificar el tipo de crisis que presenta y definir si requiere tratamiento farmacológico, así como valorar los siguientes factores: a) propios de la epilepsia: tipo, frecuencia, etiología, síndromes epilépticos, factores precipitantes, potencial curso refractario de la epilepsia; b) propios del paciente: edad de inicio, sexo, aspectos genéticos, patología médica asociada, estado neurológico actual, cumplimiento del tratamiento, estigmatización; c) factores psicosociales: duración prevista del tratamiento, repercusión psicosocial de la enfermedad, aspectos económicos y socio-sanitarios; y d) propios del medicamento: capaz de eliminar las crisis sin

producir efectos adversos importantes, farmacocinética y farmacodinamia, mayor beneficio que riesgo, costo, disponibilidad en el mercado. (25)

Ya seleccionado el fármaco, el control adecuado de la epilepsia depende de una amplia gama de factores, aunque durante el tratamiento se pueden presentar tres situaciones: 1) en el 60-70% de los casos, las crisis epilépticas se controlan adecuadamente con el tratamiento; 2) en el 30%, los pacientes presentan resistencia al tratamiento; y 3) en casos raros las crisis desaparecen por si solas. (8,26)

Los fármacos antiépilépticos se pueden clasificar en tres generaciones, en consideración de la fecha en que se iniciaron a usar, cabe mencionar que el registro de uso de FAEs inicia desde finales del siglo XIX hasta la actualidad (Figura 1). (27,28)



**Figura 1.** Representación cronológica de la introducción de los FAEs y su relación con la generación a la que corresponden. (Tomado del libro Tratamiento Farmacológico de las Epilepsias, 1era edición, Página 51).

El uso comercial de los FAEs de primera generación inicia entre 1857 hasta 1958, el más característico es el fenobarbital, sin embargo debido a sus efectos adversos, se limita su uso a crisis convulsivas neonatales, crisis convulsivas tónico-clónicas generalizadas, y en menor grado a crisis focales complejas. Dentro de este grupo también se encuentran varios fármacos derivados de la estructura de los barbitúricos como la difenilhidantoína; además de la etosuximida, para crisis de ausencia. (27-28)

Entre 1960 y 1975 aparecen los de FAEs de segunda generación donde se incluyen la carbamacepina, el ácido valproico y las benzodiazepinas. Estos últimos útiles para el Síndrome de Lennox-Gastaut y como variante en las crisis de ausencia y mioclónicas. (27-28) Después de 1980, se incorporan los de tercera generación como lacosamida, vigabatrina, lamotrigina, oxcarbazepina, topiramato, levetiracetam, pregabalina, los cuales tienen la finalidad de ser más específicos para cada tipo de epilepsia y con la menor cantidad de efectos secundarios. (27-28) De acuerdo con la literatura la eficacia y los mecanismos de acción y la tolerabilidad son similares entre los FAEs de 1ra, 2da y 3ra generación, sin embargo los novedosos como levetiracetam, gabapentina, vigabatrina presentan menos interacciones y mejor perfil farmacocinético que los anteriores, por lo que se favorece el efecto terapéutico de estos fármacos. (29)

Actualmente se considera adecuado iniciar el tratamiento con monoterapia, sin embargo aproximadamente el 30% de los pacientes epilépticos no responden a una o varias monoterapias y en ellos se recurre al uso de dos o más FAEs. (30)

A continuación se enlistan los principales fármacos antiepilépticos, sus características farmacológicas y el tipo de crisis en las cuales están indicadas. (28,29)

**Clases de Fármacos Antiepilepticos**

<b>Nombre</b>	<b>Mecanismo de acción</b>	<b>Indicación</b>
Fenobarbital	Aumenta la inhibición del GABA (prolonga el tiempo medio de apertura del canal)	Crisis neonatales, febriles, focales secundariamente generalizadas
Fenitoína	Interfiere en el transporte de sodio a través de la membrana neuronal	Crisis focales y tónico-clónicas generalizadas
Carbamazepina	Reduce las descargas de alta frecuencia repetitivas	Crisis focales y focales secundariamente generalizadas
Valproato de Magnesio	Eleva niveles de GABA en SNC por acción sobre la enzima glutamato descarboxilasa, bloqueo del flujo dependiente de sodio, activan la conducción de $K^+$ dependiente de $Ca^{2+}$	Crisis generalizadas, crisis parciales con o sin generalización secundaria, crisis de ausencia, tónico-clónicas, mioclonias
Benzodiazepinas	Los sitios de unión se encuentran en los receptores $GABA_A$ .  (aumenta frecuencia de apertura del canal)	Estado epiléptico, adyuvante en crisis focales, crisis de ausencia, mioclónicas, tónicas, Sx Lennox Gastaut
Oxcarbazepina	Bloqueo de canales de $Na^+$ voltaje dependientes, inhibe las Corrientes de $Ca^{2+}$ activadas por voltaje, antagoniza la actividad inducida por canales de $K^+$ .	Crisis focales y generalizadas tónico-clónicas
Lamotrigina	Bloqueador de los canales de $Na^+$ dependientes de voltaje, estabilizando la membrana presináptica, bloqueando las descargas repetitivas e inhibiendo la liberación de aminoácidos excitadores, principalmente glutamato y aspartato.	Crisis focales, convulsiones tónico-clónicas primariamente generalizadas, Sx Lennox Gastaut
Vigabatrina	Potenciación GABAérgica mediante la inhibición enzimática irreversible	Epilepsia focal, epilepsia generalizada, Sx Lennox Gastaut, Sx West
Topiramato	Modulación de los canales de $Na^+$ dependientes de voltaje, potenciación de corrientes $GABA_A$ y bloqueo del receptor de glutamato subtipo AMPA/Kainato	Crisis focales, tónico-clónicas generalizadas, epilepsia mioclónica juvenil, crisis de ausencia, Sx Lennox Gastaut, Sx de West, Sx Dravet
Gabapentina	Unión a proteína auxiliar en los canales de $Ca^{2+}$ voltaje dependiente, reduce el influjo de $Ca^{2+}$ en los terminales presinápticas, inhibiendo la liberación de glutamato, noradrenalina y sustancia	Crisis focales

	P.	
Pregabalina	Se une a una proteína auxiliar del canal de $Ca^{2+}$ dependiente de voltaje, reduciendo el influjo de $Ca^{2+}$ en la terminal neuronal.	Crisis focales con o sin generalización secundaria
Lacosamida	Actúa de forma selectiva aumentando la acción inhibitoria de los canales de $Na^+$ dependientes de voltaje de inactivación lenta.	Crisis focales con o sin generalización secundaria
Levetiracetam	Afecta los niveles intraneuronales de $Ca^{2+}$ mediante la inhibición parcial de las corrientes de este ión y la disminución de la liberación de $Ca^{2+}$ de la reserva intraneuronal.	Crisis focales con o sin generalización secundaria, adyuvante de Crisis mioclónicas, Crisis tónico-clónicas generalizadas

Con los fármacos disponibles, hasta dos tercios de personas con epilepsia logran ausencia de crisis. Esto traduce en una mejor calidad de vida y reduce el riesgo de lesiones asociadas a convulsiones y muerte. Sin embargo un tercio de las personas con epilepsia no tienen control adecuado de convulsiones con los medicamentos actuales. Para ellos el panorama terapéutico es alentador con la inclusión de nuevas opciones terapéuticas. (26,27,29)

### 1.1.8. Epilepsia Refractaria

La Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) generó una definición de consenso formal en el 2010, donde se considera refractario a tratamiento médico a todo paciente en el que se hayan utilizado dos medicamentos antiepilépticos bien tolerados, indicado para el tipo de crisis y utilizados a dosis adecuada, en régimen de monoterapia o politerapia para lograr ausencia de crisis convulsivas sostenidas durante un período mayor a 12 meses. (11,26,31)

En base a esta clasificación, diversos estudios reportan que existe una prevalencia entre el 28.4% y el 37% de pacientes epilépticos con farmacoresistencia. (32,34) La naturaleza de los mecanismos que subyacen a la farmacoresistencia pueden ser descritos, como una interacción compleja entre la etiología (estructural o disfunción de canales iónicos), la genética por medio del gen-1-P-Glicoproteína (MDR1), y sobreexposición de una variedad de proteínas asociadas con la multiresistencia (MRP1 y MRP2). Estos son factores relevantes

que explican la respuesta terapéutica variable en distintos pacientes con el mismo tipo de lesión, y que derivan a la farmacoresistencia en el tratamiento de la epilepsia. (34,35)

La importancia de diagnosticar adecuadamente los pacientes con epilepsia refractaria es la posibilidad de ofrecerle opciones de tratamiento específicas, terapias blanco, tratamientos no farmacológicos como dieta cetogénica, cirugía, estimuladores y tratamientos en investigación. (33)

### **1.1.9. Estado Epiléptico**

La definición conceptual del estado epiléptico por la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) la refiere como una condición resultante de la falla de los mecanismos responsables de la terminación de la crisis epiléptica o de la iniciación de los mecanismos los cuales derivan anormalmente a crisis convulsivas prolongadas (mayores a 5 minutos). Esta es una condición que puede tener consecuencias a largo plazo (después de 30 minutos de duración), incluyendo muerte neuronal, lesión neuronal, y alteración de conexiones neuronales, dependiendo del tipo y duración de las crisis. La definición operacional la refiere como una convulsión prolongada por 30 minutos o convulsiones recurrentes sin repercusión de conciencia entre ellas, que dura más de 30 minutos. (36)

Se denomina estado epiléptico refractario a aquel que se mantiene entre 60 a 120 minutos a pesar del tratamiento de 1ra y 2da línea, requiere anestesia general. Si tras 24 horas de anestésicos, el estado epiléptico continua o recurre, incluyendo recaídas durante la reducción o retiro de anestésicos se le denomina Estado epiléptico súper refractario. (37)

Es la emergencia neurológica más común en niños, la cual requiere una atención inmediata para disminuir riesgo de complicaciones y muerte. Tiene una incidencia de 17 a 23 casos por cada 100,000 niños por año, la mayoría en menores de 5 años. En la literatura se reporta que del 8 al 15% de los pacientes epilépticos tendrán un evento de estado epiléptico, y el 20% lo presentarán en los primeros 5 años del diagnóstico de epilepsia. El 12% de los pacientes con

epilepsia debutarán con estado epiléptico, y del 10 al 25% tendrán más de un episodio. (38)

La etiología del estado epiléptico es variable, 33% presentan antecedente de epilepsia sintomática, 26% por crisis secundarias agudas secundarias a meningoencefalitis, alteración hidroelectrolítica, sepsis, hipoxia, trauma, intoxicación; 22% febril, 15% criptogénico, 3% encefalopatía progresiva. (37)

Se clasifica en convulsivo (con actividad motora clínica) focal o generalizado; o no convulsivo (con alteración de la conciencia) focal o generalizado. En la edad pediátrica se reporta hasta 29% de estado epiléptico focal (de estos el 35% se generalizan) y 36% son estado epiléptico generalizado. (37)

El diagnóstico es clínico, la Tomografía Axial Craneal (TAC) o la Resonancia Magnética (RM) pueden ayudar a localizar lesiones cerebrales, así como la resonancia en fase aguda es útil para la localización de la zona epileptógena. Además de un registro electroencefalográfico digital para monitorización continua o intermitente, debido a que se ha observado actividad eléctrica epiléptica subclínica hasta en un 48% de los pacientes. (39)

El tratamiento tiene como objetivo principal estabilizar las funciones vitales del paciente y controlar la crisis epiléptica de forma inmediata. (37)

El tratamiento hospitalario de primera línea se basa en:

- Benzodiazepinas, se usa por su fácil administración y rápido inicio de acción.
- Fenitoína, es considerada como de elección por lograr control inmediato y evitar recurrencias.
- Fenobarbital, este presenta efectividad demostrada, sin embargo se encuentra en desuso por sus efectos secundarios.

Los fármacos de segunda línea son:

- Acido Valproico, este es efectivo en estado epiléptico resistente a fármacos anteriores, presenta mejor control de las crisis y mejor perfil de seguridad.
- Levetiracetam, se le considera de amplio espectro de acción y de buen perfil farmacocinético.



Para el tratamiento de estado epiléptico refractario en adultos, se utilizan anestésicos (midazolam, propofol, tiopental principalmente) y fármacos antiepilépticos como primera línea. Seguido de Hipotermia, magnesio, piridoxina, inmunoterapia, dieta cetogénica, cirugía de emergencia. De tercera línea se encuentra la terapia electroconvulsiva, estimulación magnética transcraneal, estimulador de nervio vago, drenaje de líquido cefalorraquídeo. (37)

La tasa de mortalidad a corto plazo se reporta del 2.7 hasta el 8% en Unidad de cuidados intensivos pediátricos. El pronóstico depende de la causa, la presentación clínica, la edad del paciente y la duración del estado epiléptico. Solo el 2% es causado *per se* por el estado, el resto es por causas sintomáticas agudas. Esta condición puede además producir secuelas neuropsicológicas, motoras, cognitivas y de memoria. (39)

#### 1.1.10. Modelos experimentales

El uso de modelos experimentales para el estudio de la epilepsia, permiten al investigador comprender varios aspectos de la enfermedad como su causa, consecuencias, evolución, diagnóstico y proponer así diferentes terapias farmacológicas para tratar de controlar las crisis. (40)

Se han desarrollado modelos experimentales basados principalmente en simular las crisis epilépticas observadas en el humano. Estos se clasifican considerando:

Cuadro 2. Modelos Experimentales de epilepsia en ratas	
<b>1. Duración del protocolo para inducir las crisis epilépticas ya sea agudo o crónico.</b>	
<b>2. Causa de la actividad epiléptica por sustancias:</b>	
<b>a) Químicas:</b>	Acido kaínico, Pilocarpina, Pentilenetrazol, Glutamato monosódico, Fluoroetil, Toxina tetánica, Antibióticos.
<b>b) Estímulos físicos:</b>	Kindling eléctrico, generación de poscargas corticales, electrochoques, hipertermia, hipoxia.
<b>c) Alteraciones metabólicas.</b>	
<b>d) Mutaciones genéticas:</b>	Ratas genéticamente propensas a crisis de ausencia o

propensas a epilepsia.
<b>3. Tipo de actividad eléctrica que se desea generar:</b>
a) Focales/generalizadas,
b) Corticales/límbicos,
c) Clónicas/tónicas,
d) Estado epiléptico.

En nuestro caso para tratar de reproducir la epilepsia del lóbulo temporal, se buscan modelos experimentales que representen estado epiléptico generalizado o crisis límbicas recurrentes, estos se pueden lograr con la administración de ácido kaínico, pentilinetetrazol ó con pilocarpina (41, 49-51).

En particular, el uso del ácido kaínico en la inducción de crisis epilépticas parciales secundariamente generalizadas (análogo del ácido glutámico), actúa como agonista de los receptores glutamatérgicos inotrópicos del mismo nombre, los cuales son particularmente abundantes en el hipocampo, que al administrarse vía parenteral, induce crisis límbicas con daño neuronal, semejando los cambios neuropatológicos observados en el sistema límbico de pacientes con Epilepsia del Lóbulo Temporal. (41)

## 1.2. Generalidades de *Heterotheca inuloides*

*Heterotheca inuloides*, también conocida como árnica de campo o de monte, cuateteco, hornilla y tabaco de las montañas. En el Estado de México le llaman "reemn" o "riemn" en lengua mazahua. En Guerrero es conocida como "acahual" o "akawtomitl", en Michoacán árnica por los purépecha. En Morelos le llaman "acahua" o "acahualli", y por último en Tlaxcala, los Náhuatl la llaman "xochihuepal". (42,43)

En referencia a su historia, se menciona que a finales del siglo XVIII, se creía por algunos autores que curaba el vértigo, taquicardia y otras enfermedades procedentes de la debilidad, mientras que otros creían que era venenosa. Concluyendo el siglo XIX el Instituto Médico Nacional refiere su uso para

contusiones, diurético, vulnerario y emetocatórtico. Es hasta el siglo XX donde la Sociedad Farmacéutica de México la consigna como diaforético, estornutatorio y antiinflamatorio en contusiones. (42)

En la medicina tradicional *Heterotheca inuloides* adquirió gran popularidad porque en ella se encontraron propiedades medicinales muy útiles, además de que es de fácil adquisición y bajo costo. Se utiliza toda la planta, y existen diferentes métodos de preparación y presentación para beber o aplicar. Para su uso interno se preparan en forma de elixir, comprimidos, soluciones inyectables, gotas, ampollas bebibles como remedio homeopático. Para su uso externo se elaboran cataplasmas, colutorios, cremas tópicas, "sprays", gargarismos, geles, parches, pomadas, ungüentos. La planta seca se emplea como infusión, tintura, loción, entre otras. (44)

### **1.2.1. Usos**

El uso medicinal del árnica proviene de su característica como astringente, antiséptica, antimicrobiana, útil en infecciones bacterianas y fúngicas. Entre ellas faringoamigdalitis, resfriado común, influenza, tosferina, bronquitis, curación de heridas (abrasiones, ampollas, eczema), diarrea, cólico renal, úlceras orales, malaria, periodontitis, vulvovaginitis, anticaspa. Además se utiliza como antiinflamatorio, para tratar contusiones y hematomas, artritis, artralgia, desgarró o dolor muscular, neuralgia, disfonía. Se le ha atribuido como estimulante del corazón y de la circulación sanguínea, como auxiliar en el tratamiento de aterosclerosis, trombosis, varices, hemorroides, equimosis, hematomas, trastornos vasculares y venosos, síncope, anemia, caquexia, hipo o hipertensión arterial, además de su efecto diurético. (42-44)

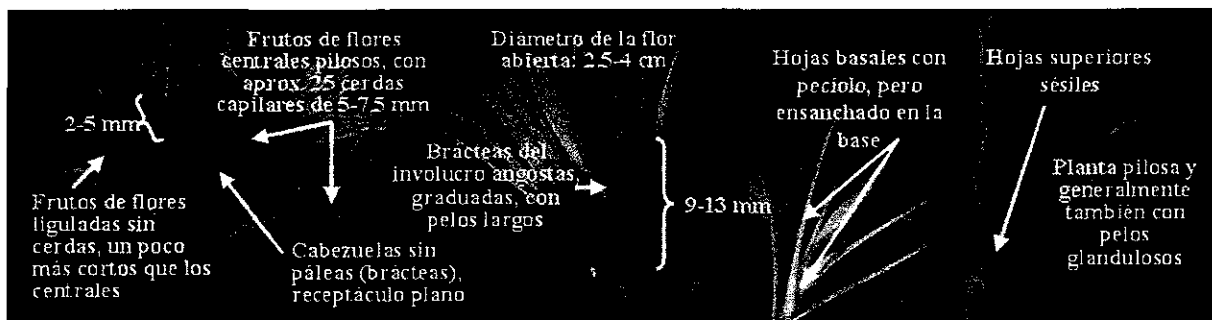
Se considera estimulante del sistema inmunológico y se recomienda como afrodisiaco, antiespasmódico, para el tratamiento contra la pérdida de cabello, dispepsia, asma, tumores, ictericia, enuresis, aseo ocular, ansiolítico, entre otros. (42-44)

### 1.2.2. Clasificación Taxonómica

*Heterotheca inuloides* comúnmente llamada árnica, pertenece a la familia Astereceae (Compositae), Reino Plantae, Subreino Traqueobionta, Superdivisión Spermatophyta, División Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Subclase Asteridae, Orden Asterales. El género *Heterotheca* involucra siete especies norteamericanas y consta de 28 a 32 especies. (43,44)

### 1.2.3. Características de la planta

Se caracteriza por medir entre 50 cm hasta 1.5 metros de alto, con un tallo piloso erecto, no muy ramificado debajo de la inflorescencia, estriado, con pubescencia piloso-hispida, además de otros pelos como los glandulosos. Las hojas superiores son sésiles, las inferiores sobre peciolo de base ancha, limbo lanceolado. La inflorescencia está bien desarrollada en conjuntos corimbiformes. Presenta cabezuelas sobre pedúnculos hasta 8 cm de largo, provisto de numerosos pelos glandulosos; involucre anchamente campanulado a hemisférico, sus brácteas aproximadamente 80, lineares con pubescencia. Hasta 40 flores liguladas, con laminas oblongas, hasta 150 flores de disco con corolas de 7mm de largo. De frutos y semillas presenta aquenios de las flores liguladas triquetos, vilano ausente o en forma de corona; aquenios de las flores del disco oblanceolados, seríceos, con cerdas interiores del vilano blanquecinas o rojizas, y cerdas o escamas exteriores. Para finalizar, presenta una raíz pivotante. (42,43)



**Figura 2.** Características de *Heterotheca inuloides*, Fotografía por Pedro Tenorio Lezama, de Malezas de México, 2009.

#### **1.2.4. Ubicación geográfica**

Es una planta nativa de México, la cual crece en climas cálido, semicálido, semiseco y templado, su hábitat natural es ruderal y arvense, pastizales perturbados, claros en bosques. Se distribuye longitudinalmente desde el nivel del mar hasta 2400 metros dentro, y altitudinalmente desde el nivel del mar hasta 3100 metros arriba. (43)

Crece en el estado de Chihuahua, San Luis Potosí, Aguascalientes, Veracruz, Nayarit, Guanajuato, Nueva León, Querétaro, Tlaxcala, Hidalgo, Puebla, Oaxaca, Ciudad y Estado de México. Es una planta perenne, florece de Julio a noviembre, se cultiva en huertos familiares, asociada a bosques tropicales caducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, pradera semiárida, bosques de encino, de pino y de juníperos, de las partes Altas de México. (42-44)

#### **1.2.5. Propiedades químicas y farmacológicas**

El órgano más estudiado de esta planta es la flor, de la cual se han obtenido una resina, aceite esencial, grasa, colorante amarillo, tanino, goma, almodón, ácido gálico, oxálico, un principio amargo y un alcaloide. (42)

Acerca del aceite esencial, se han identificado sesquiterpenos, calacoreno y epoxido de cariofileno. Además de aislar flavonoides, quercetina, componentes fenólicos, cumarina umbeliferota, triterpenos, eterdimetilico, luteolina, kaemferol, poliacetilenos, cadinanos, alfa-arabinósido, beta glucuróido, esteroides avenastenol. Se ha observado que los extractos de *Heterotheca inuloides* ejercen una fuerte actividad antibiótica sobre *Estafilococo aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. (42)

#### **1.2.6. Efectos biológicos y sus mecanismos a nivel central**

En los últimos años se han reportado en diferentes trabajos los resultados de las investigaciones sobre la caracterización de varios componentes de la flor y sus efectos biológicos. Se ha demostrado un efecto antioxidante *in vitro*, en experimentos. Esto se debe por un efecto inhibitorio de COX-1 y COX-2,

antioxidante, inhibición de la peroxidación lipídica e inhibición de la actividad de tirocinasa. (51-52)

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La alta incidencia de epilepsia en edad pediátrica, aunada al alto porcentaje de falta de control de las crisis epilépticas por el tratamiento terapéutico actual, resulta en la necesidad de la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas alternativas, que permitan el mejor control de las crisis epilépticas en estos pacientes, por lo que el estudio de nuevos agentes de origen natural, basados en el uso de plantas medicinales en modelos experimentales es una herramienta para abordar esta problemática.

## **3. JUSTIFICACION**

La epilepsia es un trastorno neurológico frecuente a nivel mundial, y un problema de salud pública debido a las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales que conlleva. Con alta incidencia en la edad infantil, y hasta un 30% de pacientes sin control de las crisis epilépticas con tratamiento convencional, donde se favorecen las secuelas y aumenta el riesgo de mortalidad. Por tal motivo es de suma importancia la búsqueda de nuevos tratamientos alternativos a los fármacos antiepilépticos para el control adecuado de las crisis convulsivas, mejorando la calidad de vida tanto de ellos como de su familia.

El propósito de este trabajo es proponer el estudio de sustancias de origen natural, que presenten efectos sobre la modulación de la neurotransmisión, como el árnica (*Heterotheca inuloides*), a la cual se le han atribuido múltiples propiedades, entre ellas antiinflamatorias, antimicrobianas; analgésicas, antioxidantes y neuroprotectoras. Se propone que sus extractos metanólico y acetónico disminuirán la severidad y aumentarán la latencia de las crisis convulsivas dependiendo de la dosis administrada.

#### **4. HIPÓTESIS**

Los extractos metanólico y acetónico de *Heterotheca inuloides* aumentarán la latencia de inicio de crisis convulsivas, así como la disminución de la severidad inducidas por ácido kaínico, dependiendo de la dosis administrada.

#### **5. OBJETIVO**

##### **5.1. Objetivo General**

Evaluar la respuesta conductual de la administración de los extractos metanólico y acetónico de la *Heterotheca inuloides* (árnica mexicana) en las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico.

##### **5.2. Objetivos Específicos**

1. Determinar el efecto de la administración del extracto metanólico y acetónico de *Heterotheca inuloides* (30, 100, 300 mg/Kg, i.p.), en la latencia de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico.
2. Determinar el efecto de la administración del extracto metanólico y acetónico de *Heterotheca inuloides* (30, 100, 300 mg/Kg, i.p.), en la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico.

#### **6. TIPO DE ESTUDIO**

Este fue un estudio experimental, prospectivo, analítico y comparativo.

#### **7. MATERIALES Y METODOS**

##### **7.1. Población de estudio**

La población de estudio correspondió a los extractos metanólico, acetónico de *Heterotheca inuloides mexicana* donada por el Dr. Guillermo Ortega, del Instituto de Química, UNAM.

## **7.2. Criterios de selección**

### **Criterios de inclusión**

Se contemplaron dos aspectos:

- 1) En animales: Estos fueron sanos, machos y de la cepa Wistar.
- 2) En tratamientos: Se considero solo a los animales que tuvieron los tratamientos con los extractos completos.

### **Criterios de exclusión**

- 1) Aquellos animales que al ser administrados con la dosis de ácido kaínico, fallecieron en menos de 30 minutos y no haya sido posible realizar las evaluaciones conductuales.

## **7.3. Animales de Experimentación**

Se utilizaron ratas macho, sanos, de la cepa Wistar (250 gr). Estas se mantuvieron en cajas individuales en el bioterio, en condiciones de temperatura y luz adecuadas, se alimentaron con dieta estándar (Purina, México) y agua natural ambos a libre demanda.

Los animales se distribuyeron aleatoriamente en los grupos experimentales. Los cuales se realizaron con un número de sujetos mínima necesaria para realizar un análisis estadístico ( $n=6$ ), esto de acuerdo a las NOM (Normas Oficiales Mexicanas), donde se busca la cantidad mínima de uso de animales para experimentación, por grupo de tratamiento.

## **7.4. Ubicación del estudio**

El tratamiento y mantenimiento de los animales tratados con ácido kaínico para inducir las crisis epilépticas agudas, se llevaron a cabo en el Bioterio, así como la evaluación conductual y el posterior sacrificio de los animales se llevó en el laboratorio de Neurociencias, en la Torre de Investigación de nuestro Instituto.



## 7.5. Variables de muestra y tamaño de estudio

### 7.5.1. Variables Dependientes

Se describe a continuación cada variable, su definición, tipo de variable, unidad de medición.

	<b>Definición conceptual</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Unidad de medición</b>
	Manifestación clínica, cambio conciso en la conducta, una alteración motora o sensorial recurrente que resulta de la actividad excesiva de las neuronas de una descarga anormal, excesiva e hipersincrónica de un grupo de neuronas corticales.	Cuantitativa: número de sacudidas que presente el animal	Repeticiones en número.
	Periodo que transcurre entre la exposición de un estímulo como ácido kaínico, y el inicio de una respuesta como crisis convulsiva.	Cuantitativa.	Tiempo en minutos.
	Cantidad de veces que se repite el suceso.	Cuantitativa: número total de sacudidas que presente el animal.	Repeticiones en número.
	Duración desde que el evento inicia hasta que finaliza.	Cuantitativa.	Tiempo en minutos.

### 7.5.2. Variables Independientes

Los extractos metanólico, acetónico de *Heterotheca inuloides* a las tres dosis de estudio (30, 100 y 300 mg/Kg).

Para cada grupo de tratamiento, se ocuparon 6 animales, estos se describen en los cuadros 4 y 5:

	Tratamiento	Dosis (n)
	Ácido kaínico vía intraperitoneal	10 mg/kg (6)
	Aceite de oliva vía oral + ácido kaínico intraperitoneal	2 ml + 10 mg/kg (5)
	Extracto metanólico vía oral + ácido kaínico vía intraperitoneal	30 mg/kg + 10 mg/kg (6) 100 mg/kg + 10 mg/kg (12) 300mg/kg + 10 mg/kg (6)

	Tratamiento	Dosis (n)
	Ácido kaínico vía intraperitoneal	10 mg/kg (6)
	Extracto acetónico vía oral + ácido kaínico vía intraperitoneal	30 mg/kg + 10 mg/kg (6) 100 mg/kg + 10 mg/kg (12) 300mg/kg + 10 mg/kg (6)
	Amortiguador de fosfatos vía oral + ácido kaínico intraperitoneal	2 ml + 10 mg/kg (9)

### **7.6. Administración de *Heterotheca inuloides***

La administración del extracto se inicio tres días antes de iniciar la evaluación conductual. Esta se realizó a través de una sonda para alimentación pediátrica introducida por la boca del animal hasta la cámara gástrica. Los tratamientos descritos previamente se realizaron bajo las condiciones propias de cada grupo experimental, siempre a la misma hora.

### **7.7. Administración de Ácido Kaínico**

El día del experimento se administro la última dosis del extracto, o del vehículo y posteriormente se aplico por medio de una jeringa de insulina 10 mg/kg/dosis intraperitoneal de ácido kaínico.

### **7.8. Evaluación conductual**

Una vez concluido la aplicación de ácido kaínico, inmediatamente se inicio el proceso de observación durante 4 horas. Incluyo la monitorización basal y posteriormente cada 10 minutos hasta concluir a las 4 horas con el sacrificio del animal, o en caso de presentar muerte súbita se dio por concluido antes.

Los cambios conductuales a observar corresponde a los descrito de acuerdo a la clasificación conductual para las crisis epilépticas de la escala de Racine, donde se evalúa la frecuencia y severidad de estos, cabe mencionar que para su análisis, estos cambios son agrupados en diferentes grados o fases:

<b>Gráfico 6. Escala de Racine (34)</b>
<b>Fase 1. Automatismos faciales: masticación, cierre y guiño de ojos, babeo.</b>
<b>Fase 2. Crisis focal, mioclonias de la cabeza.</b>
<b>Fase 3. Mioclonias de las patas delanteras.</b>
<b>Fase 4. Crisis generalizadas, aumenta mioclonias, se levanta en dos patas.</b>
<b>Fase 5. Pérdida de equilibrio seguida por caída, crisis clónicas y tónico-clónicas involucrando las 4 extremidades.</b>

Las observaciones se realizaron por un grupo de investigadores con experiencia en el tema.

### **7.9. Análisis Estadístico**

Los datos referentes a latencia se presentaron como la media±error estándar de los animales por grupo (n=6), mientras que la severidad fue evaluada de acuerdo a la escala de Racine. El efecto de la administración de la *H. inuloides* en las diferentes dosis, sobre la latencia y severidad se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguida del análisis post hoc de comparación múltiple Tukey. Las diferencias significativas se asumieron cuando  $p < 0.05$ . Todos los datos obtenidos fueron analizados usando el software GraphPad versión 7.

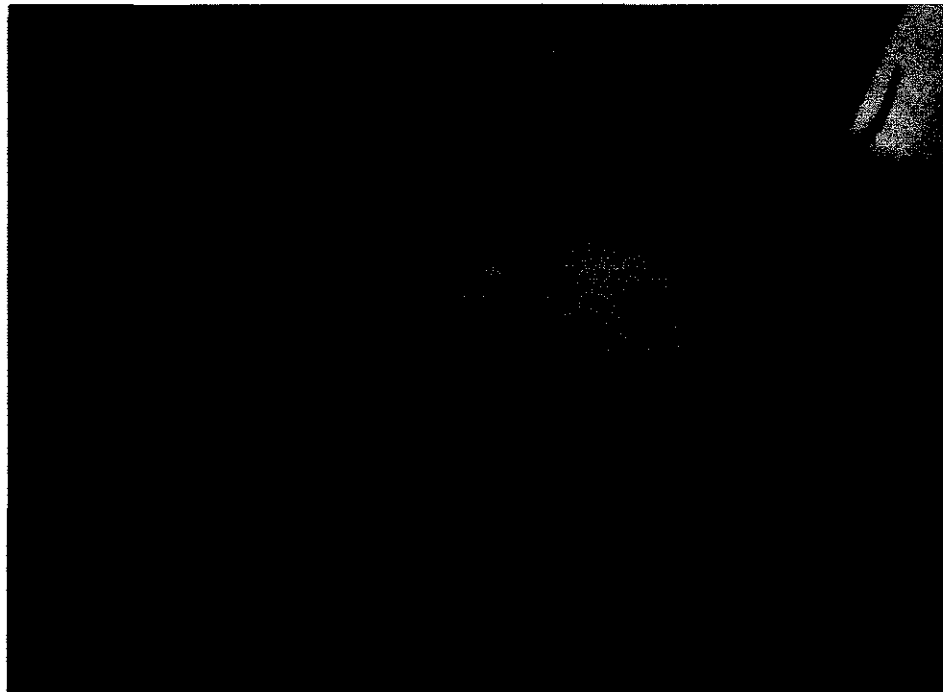
## **8. RESULTADOS**

### **8.1. Inducción de crisis convulsivas por administración sistémica de ácido kaínico (10 mg/Kg, i.p.).**

Los cambios conductuales observados en los animales tratados en este estudio fueron equiparables a lo descrito por Loscher y cols., que de acuerdo a la escala de Racine (1972), observamos cambios conductuales marcados dependiente de la hiperexcitabilidad neuronal, donde el reclutamiento de estructuras con esta actividad eléctrica anormal es creciente, donde inicialmente se observan crisis parciales (mioclonía de patas anteriores), seguidas a crisis generalizadas (posición de canguro), y que progresivamente derivó al estado epiléptico. (Figura 3)

**Figura 3:** Cambios conductuales (A) Crisis focales y (B) Crisis generalizadas inducidas en ratas Wistar macho, posterior a la administración i.p. de ácido kaínico.

(A)



(B)



## 8.2. Efecto de la administración del extracto metanólico y acetónico de *Heterotheca inuloides* (30, 100, 300 mg/Kg, i.p.), en la latencia de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico.

Se calculo el promedio de inicio de crisis convulsiva inducida por ácido kaínico en cada grupo experimental, así como el error estándar.

Los resultados obtenidos de los extractos administrados indican una aumento en la latencia de crisis inducidas con ácido kaínico, sin embargo no presentaron diferencias estadísticamente significativas. En el caso del grupo 5, (extracto metanólico, 300 mg/Kg), aunque se observó un incremento de la latencia dependiente de la dosis, llegando hasta una latencia de 40 minutos, estos no fueron estadísticamente significativos (ver cuadro 7).

Además, se observó un aumento en la latencia de las crisis con el extracto metanólico que con el acetónico, esto podría deberse a su diferente contenido fenólico y actividad antioxidante, como se ha demostrado en estudios previos (53).

Grupo experimental	Promedio (min)	ee
1. Ácido kaínico	13.33	2.11
2. Aceite de olivo + ácido kaínico	10.00	0.00
3. Extracto metanólico 30 mg/kg + ácido kaínico	15.00	2.11
4. Extracto metanólico 100 mg/kg + ácido kaínico	19.33	3.47
5. Extracto metanólico 300 mg/kg + ácido kaínico	40.00	11.16

Con respecto al extracto acetónico, se observa un aumento en la latencia con los valores promedio, el cual no es dependiente de la dosis administrada, ni es estadísticamente significativo. Aunque sucede el mismo evento que el presentado con el extracto metanólico, el grupo 5 (extracto acetónico a 300mg/kg) se duplicó la latencia del valor basal con ácido kaínico (Cuadro 8).

Grupo experimental	Promedio (min)	ee
1. Ácido kaínico	13.33	2.11
2. Amortiguador de fosfatos + ácido kaínico	17.22	2.19
3. Extracto acetónico 30 mg/kg + ácido kaínico	15.00	2.11
4. Extracto acetónico 100 mg/kg + ácido kaínico	19.00	2.46
5. Extracto acetónico 300 mg/kg + ácido kaínico	30.00	7.15

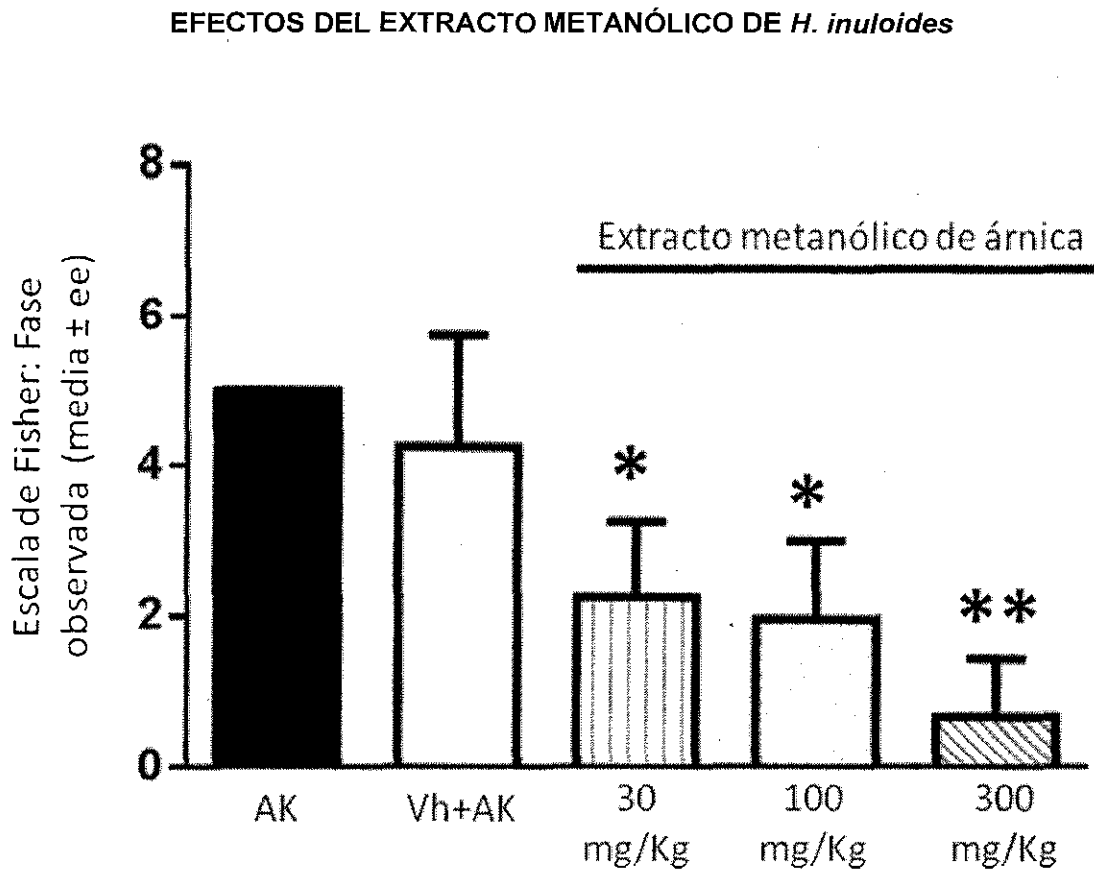
### 8.3. Efecto de la administración del extracto metanólico y acetónico de *H. inuloides* (30, 100, 300 mg/Kg, i.p.), en la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico.

Al término del experimento se observó una disminución estadísticamente significativa, de la severidad de las crisis inducidas por ácido kaínico, con ambos extractos de *H. Inuloides*. (Gráfica 1 y 2)

Los efectos del extracto metanólico indican una disminución en la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico, efecto dependiente de la dosis (a dosis de 300 mg/Kg se observa una disminución del 80%), cabe mencionar que el aceite de oliva (vehículo en este extracto) *per se* induce una disminución en la severidad de las crisis sin ser estadísticamente diferente del grupo donde se administró el ácido kaínico (Gráfica 1).

Por otro lado, los efectos del extracto acetónico de *H. inuloides* indican una disminución de la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico en aproximadamente un 40%, datos estadísticamente significativo en todas las dosis estudiadas ( $p < 0.05$ ), sin embargo el efecto observado no fue dependiente de la dosis administrada.

Gráfica 1. Efectos de los tratamientos del extracto metanólico a diferentes dosis sobre las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico.

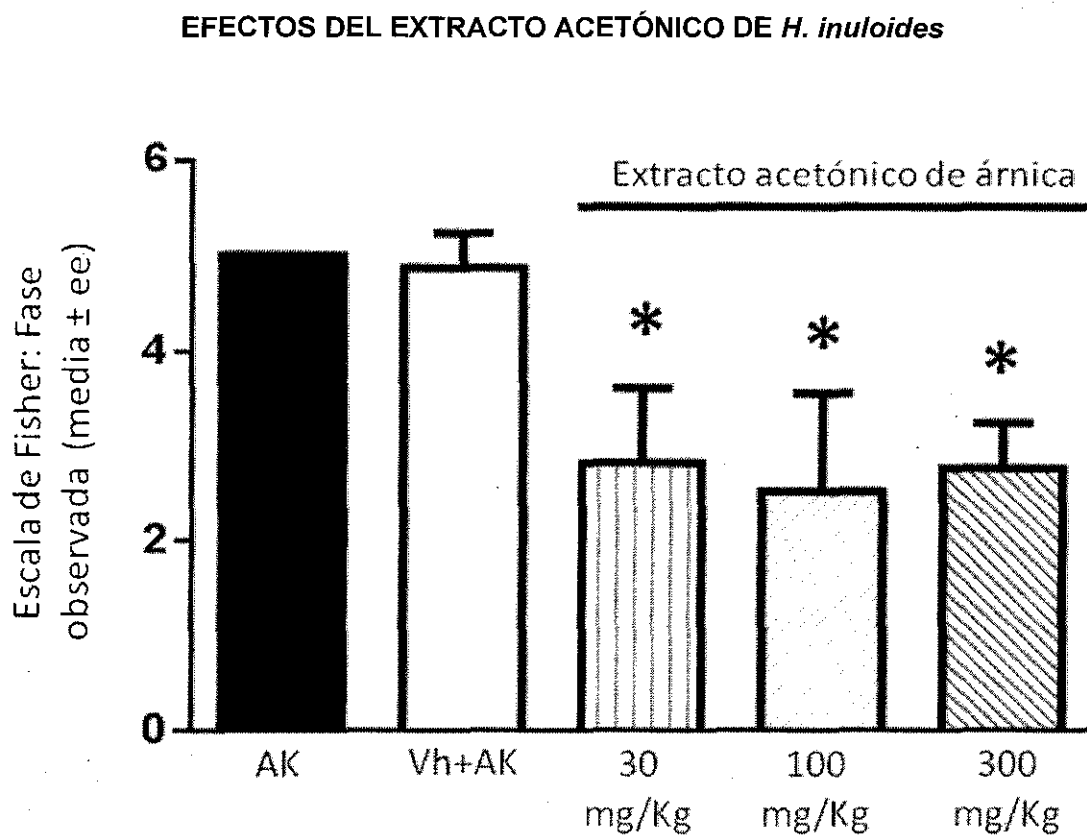


\* $p < 0.05$  AK vs Grupos extractos metanólicos 30 y 100 mg/Kg.

\*\* $p < 0.001$  AK vs Grupo extracto metanólico 300 mg/Kg.



Gráfico 2. Efectos de los tratamientos del extracto acetónico a diferentes dosis sobre las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico.



\* $p < 0.05$  AK vs Grupos extractos metanólicos 30 y 100 mg/Kg.

## 9. DISCUSION

Este estudio es la primera evidencia experimental donde los extractos metanólico y acetónico de la *H. Inuloides* inducen un aumento de la latencia y una disminución en la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico, lo que sugiere un efecto anticonvulsivante.

Ambos extractos aunque son extraídos de la misma planta presentan diferentes mecanismos de acción, este supuesto puede atribuirse que si bien no se observó efecto estadísticamente significativo sobre la latencia, se observa una respuesta diferente en la disminución de la severidad, de tal forma que con la administración del extracto metanólico, el efecto observado es dependiente de la dosis, mientras que con el acetónico no lo es. Con respecto, al aumento en la latencia en las dosis más altas, referidas a los 300 mg/Kg, esta no es estadísticamente significativa, esto nos permite establecer dos supuestos: 1) que se requiere aumentar la dosis para observar el efecto de forma estadísticamente significativa y 2) que el mecanismo de acción por el cual se disminuye la severidad de la crisis puede ser independiente de la vía glutamatérgica, sin descartar un efecto parcial sobre este sistema, la cuál es activada como efecto de la administración de AK (Lothman y Collins, 1981). Además, la latencia refleja el reclutamiento de las estructuras cerebrales, esto implica una propagación de la actividad hiperexcitable, el hecho de que se aumentará la latencia nos indica la participación de los extractos en este proceso. Cabe mencionar que los extractos estudiados han sido descritos en literatura como agentes antioxidantes, con efectos neuro y hepatoprotectores en un modelo de daño hepático y neuronal (Coballase-Urrutia, 2011), y que estos efectos son atribuidos a diferentes compuestos denominados metabolitos, los cuales por su estructura química están dentro del grupo de flavonoides, como lo es la quercetina (Coballase-Urrutia, 2010). Por todo lo anterior, la quercetina puede ser un posible candidato en mediar la respuesta anticonvulsivante observada en las crisis convulsivas inducidas por AK en nuestros sujetos experimentales, aunque no podemos dejar de considerar que los efectos de los

extractos es por la sinergia que tienen los diferentes metabolitos en conjunto, ya que además de los flavonoides existen otros grupos como los sesquiterpenos (Rodríguez-Chávez, 2015).

Por otro lado, los resultados nos permiten sugerir que el extracto metanólico, que presenta un efecto dependiente de la dosis, y mayor efecto, que el extracto acetónico, puede ser atribuido a que este extracto presenta una composición química diferente en cada extracto. Por otra parte, se han descrito propiedades antiinflamatorias y antioxidante así como funciones de inhibición de tirosinasa y peroxidación lipídica al extracto (Kubo Isao, 2000). Sin embargo, el extracto acetónico, se le han atribuido funciones de inhibición de COX-1, COX-2 y de la peroxidación lipídica, además de su efecto antiinflamatorio y antioxidante (Coballase-Urrutia, 2016).

En este estudio se indujeron crisis convulsivas límbicas mediante la administración de ácido kaínico, con subsecuente daño neuronal localizado en el sistema límbico (regiones CA1 y CA3 del hipocampo), y gliosis semejante a los cambios observados en pacientes con Epilepsia del lóbulo temporal, siendo la forma más frecuente de epilepsia a nivel mundial. Este asociado a hiperexcitación del sistema nervioso, en donde se demuestra que el daño cerebral es causado por el estrés oxidante. Además de la respuesta inflamatoria que se genera a través de mRNA mensajero del B-IL-1 liberada en la regiones del cerebro afectadas. (López-Hernández, 2012).

Por otra parte, estos datos concuerdan a otros reportes, donde se ha observado un efecto neuroprotector con los extractos metanólico y acetónico de *H. Inuloides*, probablemente debido a sus metabolitos los cuales brindan un efecto antioxidante, el cual está implicado en la fisiopatología de la epilepsia (Cárdenas-Rodríguez, 2010). Además, diversos estudios sugieren que hay una respuesta inflamatoria en las regiones del cerebro dañado por las convulsiones inducidas por ácido kaínico (Coballase-Urrutia, 2016).

Por otro lado, otras características que se le ha adjudicado al árnica reside en sus efectos como antinociceptivo, citotóxico, antibacteriano y antiinflamatorio (H.I. Rocha-González *et al.*, 2010). En particular nuestros datos se sugiere que el

extracto metanólico presenta mejores efectos, esto se observa al igual en otros efectos biológicos reportados en diferentes estudios, una posible explicación es como previamente se ha mencionado se atribuye a los compuestos químicos que lo conforman y están presentes en cantidades diferentes en cada extracto, ya que se han reportado, estos efectos por sus metabolitos quercetina y espinasterol. El extracto acetónico de *H. Inulides* contiene otros metabolitos como los cadalenos, coumarina, quercetina, stigmasterol, B-sitosterol a los cuales se les atribuyen propiedades antiinflamatorias, inhibición de la COX 1 y 2, antioxidante, inhibición de la peroxidación lipídica (Coballase-Urrutia, 2016), mientras que el extracto metanólico de *H. Inuloides* contiene quercetina, kaempferoles, epinasterol, cadalenos donde se ve inhibición de la actividad de tirosinasa, antioxidante, inhibición de la peroxidación lipídica, antiinflamatorio (Coballase-Urrutia, 2016). Además cabe mencionar que otras plantas hermanas han presenta efectos anticonvulsivantes debido a su capacidad como agentes antioxidantes más que moduladores de la neurotransmisión clásica derivada de glutamato y GABA (Cárdenas cols, 2015). Mientras que otros extractos de plantas como el tuberculo *Orchis mascula*, Te verde, *Emblíca officinalis*, Curcumina (a través de los polifenoles como flavonoides), *Panax Gingseg* (a través de los gengsenosidos que son terpenoides) donde sus extractos metanólicos disminuían las crisis convulsivas, la lipoperoxidación causada por el estrés oxidante y la inflamación a través del marcador COX-2 (Coballase-Urrutia, 2016).

## 10. CONCLUSIONES

Los resultados reportados en nuestro trabajo nos permiten sugerir que los extractos metanólico y acetónico de *H. Inuloides* modifican la severidad de las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico, aunque no es estadísticamente significativo.

Esto deriva a la necesidad de continuar con otros estudios para investigar los mecanismos de acción por los cuales se induce dicho efecto. Es importante mencionar que estos proyectos de investigación con agentes naturales con

propiedades antioxidantes y neuroprotectoras podrían ofrecer un tratamiento alternativo para ese 30% de los pacientes con epilepsia que no logran buen control con fármacos antiepilépticos. Aportando una nueva opción terapéutica a esta enfermedad, que a nivel mundial es un problema de salud pública, que tiene consecuencias catastróficas si no se logra buen control de las crisis, tanto para la familia como para el paciente.

## 11. REFERENCIAS

1. Pérez P JC, Bulacio JC, Espinosa G. Eugenia. Epilepsia en niños, Clínica, diagnóstico y tratamiento. 1ª ed. Bogotá: Editorial Pontificia Universidad Javeriana; 2014.
2. Bromfield EB, Cavazos JE, Sirven JI, Chapter 1, Basic Mechanisms Underlying Seizures and Epilepsy. In. An introduction to epilepsy. 1st ed. West Hartford: American Epilepsy Society; 2006.
3. Engel JJ. Concepts of Epilepsy. *Epilepsia*. 1995;36(1):23-29.
4. Fisher Robert S, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, *et al.* ILAE official report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-482.
5. Espinosa Jovel CA, Pardo CM, Moreno CM, Vergara J, Hedmont D, Sobrino Mejía FE. Perfil demográfico y social de la epilepsia en una población vulnerable y de bajos recursos económicos en Bogotá, Colombia. *Neurología*. 2016;31(8):528-534.
6. Baker GA. Assessment of quality of life in people with epilepsy: some practical implications. *Epilepsia*. 2001;42 Suppl 3:66-69.
7. Ficker DM. Epilepsy comorbidities, Epilepsy Foundation and American Epilepsy Society, 2015, <http://www.epilepsy.com/information/professionals/joint-content-partnership-aes/epilepsy-comorbidities>
8. Megiddo I, Colson A, Chisholm D, Dua T, Nandi A, Laxminarayan R. Health and economic benefits of public Financing of epilepsy treatment in India: An agent-based simulation model. *Epilepsia*. 2016;57(3):464-474.

9. Kwan P, Brodie MJ. Definition of refractory epilepsy: Defining the indefinable?. *Lancet*. 2010;9(1):27-29.
10. Weaver DF, Pohlmann-Eden B. Pharmacoresistant epilepsy: Unmet needs in solving the puzzle(s). *Epilepsia*. 2013;54 Suppl 2:80–85.
11. Kossoff EH. Intractable Childhood Epilepsy: Choosing Between the Treatments. *Semin Pediatr Neurol*. 2011;18(3):145-149.
12. Dua T, Janca A, Kale R, Montero F, Muscetta A, Peden M. Capítulo 1. Principios de la salud Pública y trastornos neurológicos. En: Campanini Barbara (editor). *Trastornos neurológicos: desafíos para la salud Pública*. Ginebra:World Health Organization;2006.
13. Burneo JG, Tellez-Zenteno J, Wiebe S. Understanding the burden of epilepsy in Latin America: a systematic review of its prevalence, and incidence. *Epilepsy Res*. 2005;66(1-3):63-74.
14. Chong L, Jamieson NJ, Gill D, Singh-Grewal D, Craig Jonathan C, Ju A, *et al*. Children's Experiences of Epilepsy: A Systematic Review of Qualitative Studies. *Pediatrics*. 2016;138(3):1-18.
15. Shinnar S, Pellock JM. Update on the epidemiology and prognosis of Pediatric epilepsy. *J Child Neurol*. 2002;17 Suppl 1:4-17.
16. Acevedo C, Miranda C, Campos M, Caraballo R, Carpio A, Cuadra L, *et al*. *Informes sobre la epilepsia en Latinoamérica*. 1a ed. Panamá: AG Publicidad;2008.
17. Figueroa-Duarte AS. Estudio clínico, epidemiológico y sociocultural de la epilepsia. Un enfoque crítico. *Arch Neurocienc*. 2010;15(3):139-151.
18. Garcia S, Sauri SS, Meza E, Villagómez-Ortiz AJ. Estado epiléptico (status epilepticus): urgencia neurológica. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int*. 2013;27(1):43-52.
19. Pérez P JC, Espinosa GE. Consideraciones especiales en niños con estatus epiléptico. *Acta Neurol Colomb*. 2011;27(1):47-61.
20. Devilat-Barros M, Rivera-Gómez G, Gómez-Muñoz V, Sepúlveda-Olmos J. Mortalidad en niños con epilepsia. Estudio clínico prospectivo. *Rev Neurol*. 2004;38(7):607-614.

21. Fisher R, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch Ed, Jansen FE, *et al.* Operational Classification of seizure type by the International League Against Epilepsy. [www.ilae.org/visitors/centre/documents/ClassificationSeizure/LAE-2016.pdf](http://www.ilae.org/visitors/centre/documents/ClassificationSeizure/LAE-2016.pdf)
22. Nickels KC, Wong-Kisiel LC, Moseley BD, Wirrell EC. Temporal lobe epilepsy in Children, Review article. *Epilepsy Research and Treatment*. 2012.
23. Tellez-Zenteno JF, Ladino LD. Epilepsia temporal: aspectos clínicos, diagnósticos y de tratamiento, *Rev neurol* 2013; 56(4): 229-242.
24. La epilepsia y las crisis: Esperanza en la Investigación, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, Julio 2015 [https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/crisis\\_epilepticas.htm](https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/crisis_epilepticas.htm)
25. Tratamiento de las crisis epilépticas y de la epilepsia en el niño <http://neuropedwikia.es/content/tratamiento-de-las-crisis-epilepticas-y-de-la-epilepsia-en-el-nino>
26. Tellez-Zenteno JF, Hernandez-Ronquillo L, Buckley S, Zahagun R, Rizvi S. A validation of the new definition of drug-resistant epilepsy by the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*, 2014;55(6):829–834.
27. Löscher W, Schmidt D. Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: ways out of the current dilemma. *Epilepsia*, 2011; 52 (4): 657-678.
28. Targas YE, Contreras-Caicedo G, Rios-Pohl L. Tratamiento farmacológico de las epilepsias. 1a ed. Sao Paulo: Editorial Leitura Médica Ltda;2014.
29. Herranz-Fernández. Fármacos antiepilépticos. IV Congreso Internacional fundación Síndrome de West. Marzo 2012. <http://volteretasvigo.blogspot.com/2012/03/farmacos-antiepilepticos-dr-jose-luis.html>
30. Mercadé-Cerdá JM, Mauri Llerda JA, Becerra Cuñat JL, Parra Gómez J, Molins Albanell A, Viteri Torres C, *et al.* Pronóstico de la epilepsia. Inicio del tratamiento crónico farmacológico. *Neurología*. 2015;30(6):367-374.
31. Serrano-Castro PJ, Pozo-Muñoz C, Alonso-Morillejo E, Martos-Méndez MJ, Bretones-Nieto B. Factores vinculados a la adhesión al tratamiento en pacientes con epilepsia refractaria y no refractaria. *Rev Neurol*. 2011;53(12):721-728.

32. Villanueva V, Girón JM, Martín J, Hernández-Pastor LJ, Lahuerta J, Doz M, *et al.* Impacto económico y en la calidad de vida de la epilepsia resistente en España: estudio ESPERA. *Neurología*. 2013;28(4):195-204.
33. Pablos-Sánchez T. Experiencia en el tratamiento con dieta cetogénica de la epilepsia refractaria en la edad pediátrica. *Rev Neurol* 2014; 58: 55-62.
34. Ghofrani M. Intractable Epilepsy In Children. *Iran J ChildNeurology*. 2010;4(3):7-14
35. Pedley Timothy A, Hirano M. Is refractory epilepsy due to genetically determined resistance to antiepileptic drugs?. *N Eng J Med* 2003;348(15):1480-1482.
36. Trinka E, Cock H, Hesdorffer D, Rossetti A, Scheffer I, Shinnar S, *et al.* A definition and classification on status epilepticus-Report of the ILAE Task Force on Classification of *Status Epilepticus*. *Epilepsia*. 2015;56(10):1515-1523.
37. Vargas LC, Varela X, Kleinsteuber SK, Cortes ZR, Avaria B. Maria. Revisión del estado epiléptico convulsivo pediátrico y su manejo antiepiléptico. *Rev Med Chile*. 2016;144:83-93.
38. Rodríguez E. Status epiléptico en la infancia. *Archivos de Neurología*. 2008;7(2):44-55.
39. Corral-Ansa L, Herrero-Meseguer JI, Falip-Centellas M, Aiguabella-Macau M. Estatus epiléptico. *Med Intensiva*. 2008;32(4):174-182.
40. Sampieri A, Rivera-Espinosa L, Zavala-Tecuapetla C, Carmona-Aparicio L. Modelos experimentales de la epilepsia del lóbulo temporal, *Acta Pediatr Mex* 2011;32(5):311-312.
41. Zavala-Tecuapetla C, López-Meraz Maria L. Modelos experimentales de epilepsia en ratas en desarrollo. *Rev eNeurobiol*. 2011;2(2).
42. Atlas de las plantas de la medicina tradicional Mexicana, Biblioteca digital. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Heterotheca%20inuloides&id=7120>
43. Mondragón Pichardo J, Ficha Técnica 20, julio 2004, URL Heike Vibran sed, ultima modificación 13 julio 2009, Malezas de México



[www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/hetherotheca  
inuloides/fichas/ficha.htm](http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/hetherotheca_inuloides/fichas/ficha.htm)

44. Waizel-Buccay J, Cruz-Juarez M. Arnica Montana L, planta medicinal Europea con relevancia. Rev Mex de Cien For. 2014;5(25):98-109.
45. Martínez M, Linares Mazari, Arnica Mexicana. [www.redsa.com.mx/descargas/fichastecnicas/arnicamexicana.pdf](http://www.redsa.com.mx/descargas/fichastecnicas/arnicamexicana.pdf)
46. Torres Zambrano M, Bustos Sánchez JL, Granados Llamas F. Pathophysiology of status epilepticus. Acta Neurol Colomb. 2011;27(1):11-20.
47. Las epilepsias y las crisis: Esperanza en la Investigación, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, Julio 2015, [https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/crisis\\_epilepticas.htm](https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/crisis_epilepticas.htm)
48. Ciencia al Día Internacional, Abril 2004, Vol. 5, No. 2, ISSN0717-3849 <http://www.ciencia.cl/CienciaAIDia/volumen5/numero2/articulos/articulo5.html>
49. López-Hernández E, Solís H. Epilepsia del lóbulo temporal y las neuronas hipocámpales de las áreas CA1 y CA3. Rev Fac Med UNAM 2012;55(5):16-25.
50. Lothman EW, Collins RC. Kainic acid induced limbic seizures: metabolic, behavioral, electroencephalographic and neuropathological correlates. Brain Res. 1981;218(1-2):299-318.
51. Coballase Urrutia E., Evaluación biológica de Hetheroteca inuloides (árnica) en el estado epiléptico. 2017. En proceso.
52. Kubo I, Kinst-Hori I, Chaudhuri SK, Kubo Y, Sanchez Y, Ogura T. Flavonols from Heterotheca inuloides, Tyrosinase Inhibitory activity and structural criteria. Bio and medic chem. 2000;8(7):1749-1755.
53. Coballase-Urrutia E, Pedraza-Chaverri J, Cárdenas-Rodríguez N, Huerta-Gertrudis B, García-Cruz ME, Ramírez-Morales A, et al. Hepatoprotective effect of acetic and methanolic extracts of Heterotheca inuloides against CCl4- induced toxicity in rats. Exp Toxicol Pathol. 2011;63(4):363-370.
54. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1972;32(3):281-294.
55. Rodríguez-Chávez JL, Coballase-Urrutia E, Sicilia\_argumedo G, Ramírez-Apan T, Delgado G. Toxicological Evaluation of the natural products and some

semisynthetic derivatives of *Heterotheca inuloides* Cass (Asteraceae). *J Ethnopharmacol.* 2015;175:256-265.

56. Coballase-Urrutia E, Peraza-Chaverri J, Camacho-Carranza R, Cárdenas-Rodríguez N, Huerta-Gertrudis B, Medina-Campos O, et al. Antioxidant activity of *Heterotheca inuloides* extracts and some of its metabolites. *Toxicol.* 2010;276(1):41-48.

57. Coballase-Urrutia E, Pedraza-Chaverri J, Cárdenas-Rodríguez N, Huerta-Gertrudis B, García-Cruz ME, Montesinos-Correa H, et al. Acetonic and Methanolic extracts of *Heterotheca inuloides* and Quercetine decrease oxidative stress in several tissue rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:1-13.