



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“DETERMINACIÓN DE LA DOSIS EFECTIVA PARA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Passiflora ligularis* Y *Passiflora mixta* EN RATONES *Mus musculus* MEDIANTE ADMINISTRACIÓN ORAL”.

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

“BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA”

AUTORA: MARTHA ALEXANDRA GUAMÁN PINDA

TUTORA: DRA. SUSANA ABDO

RIOBAMBA-ECUADOR

2016

© 2016, MARTHA ALEXANDRA GUAMÁN PINDA

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de Trabajo de Titulación certifica que el trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA DOSIS EFECTIVA PARA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Passiflora ligularis* Y *Passiflora mixta* EN RATONES *Mus musculus* MEDIANTE ADMINISTRACIÓN ORAL”, de responsabilidad de la señorita Martha Alexandra Guamán Pinda, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación

FIRMA

FECHA

DRA. Susana Abdo

**DIRECTORA DE TRABAJO DE
TITULACIÓN**

BQF. Diego Vinueza M.Sc

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DRA. María Eugenia Macas

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

NOTA TRABAJO ESCRITO

.....

.....

**DOCUMENTALISTA SISBIB
ESPOCH**

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Martha Alexandra Guamán Pinda soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este proyecto de titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Martha Alexandra Guamán Pinda

CI. 060501933-0

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y permitirme alcanzar esta meta, por haberme brindado la oportunidad de culminar esta meta, dándome experiencias que me formaron como ser humano.

A mi familia que por sobre todas las cosas me ha demostrado su unión y su fortaleza. A mi madre por ser una mujer luchadora quien es mi ejemplo a seguir, a mi hermano Lucho la persona más fuerte que he conocido, a mi hermano, a mi cuñada que han sido un soporte de mi hogar, a mis sobrinos que son la alegría de la familia.

Y a ti, Gerson, mi novio hermoso, quien ha estado siempre conmigo sobre las adversidades levantándome cada vez que caía. Simplemente eres mi vida.

Martha A.

AGRADECIMIENTO

El más sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por brindarme no solo el orgullo de mi formación profesional sino también como ser humano.

A Susana Abdo, mi tutora por su apoyo y predisposición para ayudar ante cualquier situación.

A Dieguito Vinuesa que ha sido el pilar fundamental de este trabajo siendo un amigo e impartiendo sus conocimientos a todos los Pasifloros.

A mis amigos, Diego Niqinga y Fabian Silva que me han brindado su mano cuando

Martha A.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

TAG:	Trastorno de Ansiedad Generalizado
OMS:	Organización Mundial de Salud
GABA:	ácido γ -aminobutírico
MAO:	monoamino oxidasa
ISRS	Selectivos de la Recaptación de Serotonina
RIMA:	Inhibidores Selectivos y Reversibles de la Monoaminoxidasa
NaSSA:	Antidepresivos Noradrenérgicos y Serotoninérgicos Específicos
IRNS.	Inhibidores de la Recaptación de Serotonina y Noradrenalina
EPOC:	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
SNC:	Sistema Nervioso Central
APA:	Asociación de Psiquiatras Americanos
CIE:	Clasificación Internacional de Enfermedades
DSM:	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales
TOC:	Trastorno Obsesivo Compulsivo
TEPT:	Trastorno de Estrés Post- traumático
MHPG:	Metohidroxifenilglicol
BZD:	Benzodiazepina
EPM:	Elevated Plus maze (Laberinto Elevado en Cruz)
OFT:	Open Field Test (Campo Abierto)
msnm:	metros sobre el nivel del mar
CCF:	Cromatografía en Capa Fina
PEG:	polietilenglicol
N°:	número

°C:	grados Celsius
UV:	ultravioleta
nm:	nanómetro
Fm:	fase móvil
Rf:	franja de referencia
FTEQ:	Flavonoides totales expresados como miligramo equivalentes de quercetina
g:	gramo
mg:	miligramo
Kg:	kilogramo
Gl/gl:	grados de libertad
Sig:	significancia
min:	minutos
i.p:	intraperitoneal
UV:	Ultravioleta
M:	Molar

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA	i
DERECHOS DE AUTOR	ii
PÁGINA DE CERTIFICACIÓN	iii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	vii
TABLA DE CONTENIDO	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
RESUMEN	xv
SUMMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1
 CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO	
1.1. Antecedentes de la investigación	4
1.2. Bases teóricas	7
1.2.1. Salud mental	7
1.2.1.1. Ansiedad	8
1.2.1.2. Etiopatogenia de los trastornos de ansiedad	9
1.2.1.3. Trastornos de ansiedad	11
1.2.1.4. Síntomas.....	11
1.3.1.5. Severidad de los trastornos de ansiedad.....	12
1.3.1.6. Tipos de trastornos de Ansiedad	13
1.2.2. Neurobiología de la ansiedad	17
1.2.2.1. Estructuras neuroanatómicas de la ansiedad.....	17
1.2.2.2. Mecanismos neurobiológicos involucrados en los trastornos de ansiedad	19
1.2.3. Tratamiento de la ansiedad.....	22
1.2.3.1. Tratamiento no farmacológico	22
1.2.3.2. Tratamiento farmacológico	23

1.2.4.	Género pasiflora	36
1.2.4.1.	Passiflora incarnata (pasionaria)	36
1.2.4.2.	Passiflora ligularis (granadilla).-.....	38
1.2.4.3.	Passiflora mixta	40
1.2.5.	Modelos animales para el estudio de la ansiedad	42
1.2.5.1.	Modelos de respuesta condicionada	42
1.2.5.2.	Modelos de respuesta no condicionada	43

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1.	Recolección de la materia vegetal	45
2.2.	Materiales equipos y reactivos.....	46
2.3.	Preparación de extractos	48
2.3.1.	Recolección, lavado, secado de materia vegetal	49
2.3.2.	Elaboración de extractos liofilizados	49
2.4.	Métodos y técnicas.....	50
2.4.1.	Cromatografía en capa fina (CCF)	50
2.4.2.	Cuantificación de flavonoides.....	51
2.4.3.	Determinación de la actividad ansiolítica	52
2.4.3.1.	Laberinto en Cruz Elevado (EPM)	53
2.4.3.2.	Cuarto claro/oscuro	54
2.4.3.3.	Campo abierto	54
2.4.3.4.	Chimenea	55

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1.	Porcentaje de rendimiento	57
3.2.	Cromatografía en capa fina (CCF)	57
3.3.	Cuantificación de flavonoides totales.....	59
3.4.	Evaluación de la actividad ansiolítica	60
3.4.1.	Laberinto en cruz elevado (EPM).....	60
3.4.2.	Cuarto claro/oscuro	65
3.4.3.	Campo abierto	68
3.4.4.	Test chimenea	73

CONCLUSIONES.....80

RECOMENDACIONES.....81

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1	Clasificación de Trastornos de Ansiedad según el DSM-IV-TR y la CIE-10: equivalencias.....	13
Tabla 2-1	Las benzodiazepinas y medicamentos similares.....	24
Tabla 1-2	Lista de materiales, equipos, reactivos	46
Tabla 2-2	División y codificación de grupos <i>Passiflora ligularis</i> y <i>Passiflora mixta</i>	52
Tabla 3-2	Parámetros observados en el modelo de ansiedad	55
Tabla 1-3	Porcentaje de rendimiento de extractos etanólicos al 85% de <i>P. mixta</i> y <i>P. ligularis</i>	57
Tabla 2-3	Rf obtenidos mediante cromatografía en capa fina.....	58
Tabla 3-3	Rf de compuestos estándares.....	59
Tabla 4-3	Resultados de cuantificación de flavonoides totales.....	60
Tabla 5-3	Número de entradas en brazos abiertos	60
Tabla 6-3	Porcentaje de tiempo en brazos abiertos, %	61
Tabla 7-3	Test Anova para número de entrada a brazos	61
Tabla 8-3	Test Anova de porcentaje de tiempo en brazos	61
Tabla 9-3	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de número de entradas	62
Tabla 10-3	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de porcentaje de tiempo en brazos abiertos.....	62
Tabla 11-3	Test t de Student de número de entradas a brazos para comparación de especies de <i>Passiflora</i>	64
Tabla 12-3	Test t de Student de porcentaje de tiempo en brazos abiertos para comparación de especies de <i>Passiflora</i>	64
Tabla 13-3	Tiempo de permanencia en el cuarto claro, minutos	65
Tabla 14-3	Test Anova para el tiempo en cuarto claro	66
Tabla 15-3	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en cuarto claro	66
Tabla 16-3	Test t de Student de tiempo en cuarto claro para comparación de especies de <i>Passiflora</i>	67
Tabla 17-3	Número de cuadros recorridos en campo abierto	68
Tabla 18-3	Tiempo en centro de campo abierto, minutos	68
Tabla 19-3	Test de Anova para cuadros recorridos en campo abierto	68
Tabla 20-3	Test Anova de tiempo en centro de campo abierto.....	69
Tabla 21-3	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de cuadros recorridos	69
Tabla 22-3	Test post-hoc Duncan de grupos homogéneos de tiempo en el centro.....	70
Tabla 23-3	Test t de Student de cuadros recorridos para comparación de especies.	71
Tabla 24-3	Test t de Student de tiempo en centro comparación de especies.....	71
Tabla 25-3	Tiempo que tarda en salir, minutos	73
Tabla 27-3	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo que tarda en salir ..	73

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1-1	Esquema Psicodinámico de la Neurosis de Ansiedad	10
Figura 2-1	Mecanismo de acción de Benzodiazepinas	26
Figura 3-1	<i>Passiflora ligularis</i> (granadilla)	38
Figura 4-1	<i>Passiflora mixta</i>	40
Figura 1-2	Punto de recolección de <i>P. ligularis</i>	45
Figura 2-2	Punto de recolección de <i>P. mixta</i>	46
Figura 1-3	Cromatografía en capa fina (CCF) para flavonas glicosiladas	58

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.2	Diseño de trabajo para determinación de dosis efectiva para actividad ansiolítica	48
Gráfico 2-2	Flujograma para la preparación de extractos	49
Gráfico 3-2	Flujograma de cromatografía en capa fina (CCF)	50
Gráfico 4-2	Flujograma de cuantificación de flavonoides totales	51
Gráfico 5-2	Flujograma para la evaluación de la actividad ansiolítica	53
Gráfico 1-3	Medias de número de entrada a brazos	63
Gráfico 2-3	Medias de porcentaje de tiempo en brazos	63
Gráfico 3-3	Medias de tiempo en cuarto claro.....	67
Gráfico 4-3	Medias de cuadros recorridos en campo abierto	70
Gráfico 5-3	Medias de tiempo en el centro.....	71
Gráfico 6-3	Medias de tiempo que tarda en salir	74

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo A.** Instalaciones Bioterio ESPOCH
- Anexo B.** Lecho de animales de experimentación
- Anexo C.** Hojas trituradas de *P. ligularis*
- Anexo D.** Hojas trituradas de *P. mixta*
- Anexo E.** Sonicación de extractos
- Anexo F.** Eliminación de solvente
- Anexo G.** Liofilización de extractos
- Anexo H.** Extractos liofilizados
- Anexo I.** Espectrofotómetro
- Anexo J.** Cromatografía de Passiflora, observado UV
- Anexo K.** Homogenización del extracto liofilizado y propilenglicol
- Anexo L.** Extracto liofilizado de *P. mixta* reconstituido en
- Anexo M.** Administración del extracto liofilizado a ratones
- Anexo N.** Laberinto Elevado
- Anexo O.** Campo Abierto
- Anexo P.** Chimenea

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la dosis efectiva de los extractos etanólicos de Granadilla *Passiflora ligularis* y Taxo silvestre *Passiflora mixta* en ratones *Mus musculus* por administración oral; el estudio se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales y Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. El material vegetal se recolectó, se secó, se extrajo con etanol al 85% y posteriormente se liofilizó. Los flavonoides de los extractos fueron analizados por cromatografía en capa fina (CCF) con fase móvil de ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26) y cuantificados por espectrofotometría UV. La actividad ansiolítica fue evaluada en 60 ratones, los cuales fueron divididos en grupos de cinco ratones, a cinco grupos se les administró cinco diferentes dosis (25, 50, 100, 200, 300 mg/kg) una por grupo, un grupo blanco (propilenglicol 15%) y un grupo control (clonazepam 0,5mg/kg). La actividad ansiolítica se evaluó con cuatro test: laberinto en cruz elevado (EPM), campo abierto (OFT), cuarto claro/oscuro y actividad miorrelajante (chimenea). Los parámetros medidos fueron: número de entradas a brazos, porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en cuarto claro, cuadros recorridos, tiempo en el centro, tiempo que tarda en salir de la chimenea. El porcentaje de extracción de hojas secas de *P. ligularis* fue de 5,27% y *P. mixta* 4.96 %. Por CCF se identificaron isovitexina, vitexina, vitexina-2''-O-glucósico en extracto de *P. mixta* y el compuesto schaftoside en *P. ligularis*. El extracto liofilizado de hojas de *P. ligularis* contiene $307,203 \pm 4,237$ FTEQ /g de flavonoides y el de *P. mixta* de $379,54 \pm 4,54$ FTEQ/g. Se concluye que la dosis con mayor actividad ansiolítica del extracto liofilizado de *P. ligularis* fue de 100 mg/kg y 200 mg/kg para *P. mixta*; por lo que se constituyen dosis eficaces para el tratamiento de la ansiedad en ratones. Se recomienda determinar la toxicidad aguda en ratas a partir de 300 mg/kg, con perfiles hepáticos, y estudios fisiopatológicos de hígado, riñón, pulmón.

Palabras Clave: <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <FARMACOLOGÍA>, <EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES>, <ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA>, <TEST DE EVALUACIÓN ANSIOLÍTICA>, <GRANADILLA (*Passiflora ligularis*)>, <TAXO SILVESTRE (*Passiflora mixta*)>, <RATONES (*Mus musculus*)>.

SUMMARY

The objective of the research was to determine the effective dose of the ethanol extracts of Granadilla *Passiflora ligularis* and curuba *Passiflora Mixed* in *Mus Musculus* mice by oral administration; the study was carried out in the Natural Products and Bioterror Laboratory of the Politecnic School of Chimborazo. The plant material was collected, dried, extracted with 85% ethanol and subsequently lyophilized. The flavonoids from the extracts were analyzed by thin layer chromatography (TLC) with mobile phase of acetic acid; formic acid; water (100: 11: 11: 26) and quantified by UV spectrophotometry. Anxiolytic activity was evaluated in 60 mice, which were divided into groups of five mice, five groups were given five different doses (25, 50, 100, 200, 300 mg/kg) one by group, a blank group (propyleneglycol 15%) and a control group (clonazepam 0,5 mg/kg). The Anxiolytic activity was assessed with four tests; Labyrinth in elevated cross (EN), open field (OFT), light / dark room and myorelaxant activity (chimney). The parameters measured were: number of entrances to arms; percentage of time in open arms, time in clear room, charts covered, time in the center, time it takes to leave the chimney. The percentage of dry hours extraction of *P.ligularis* was 5.27% and *P. mixed* 4.96%. By TLC was identified as isovitexin, vitexin, vitexin-2 O glycosyl in extract *P. mixed* and the schaftoside compound in *P. ligularis*. The ffeeze-dried extract of *P. ligularis* leaves contains 307.203 + 4.237 FTEQ/g of flavonoids and that of *P. mixed* of 379.54 + 4.54 FTEQ/g. It was concluded that the dose with higher anxiolytic activity of the lyophilized extract of *P. ligularis* was 10 mg / kg and 200 mg / kg for *P. mixed*; And thus constitute effective doses for the treatment of anxiety in mice. It is recommended to determine the acute toxicity in rats from 300 mg/kg, with liver profiles, and pathophysiological studies of liver, kidney, lung.

Key words: <TECHNOLOGY AND ENGINEERING SCIENCES>, <PHARMACOLOGY>, <EXTRACTING FLAVONOIDS>, <ANXIOLYTIC ACTIVITY>, <ANXIOLYTIC EVALUATION TESTS>, <GRANADILLA (PASSIFLORA LIGULARIS)>, <CURUBA (MIXED PASSIFLORA)>

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de los trastornos mentales es muy alta, siendo esta una de las causas principales de morbilidad y sufrimiento. La situación se ve agravada ya que estos trastornos no reciben atención eficaz. La brecha terapéutica de este tipo de trastornos es amplia y extendida en el mundo, variando de región a región. (Khon et al, 2010. URL: <http://www.who.int/bulletin/volumes/82/11/khon1104abstract/es/>).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) reveló que sigue existiendo desigualdades en los recursos y servicios de salud mental, incluyendo a países con ingresos medianos o altos. Estos informes han proporcionado mejor comprensión sobre la magnitud y la brecha de tratamiento existente en la población de América Latina; indicando que en cuanto a los adultos con trastornos de ansiedad y afectivos la brecha terapéutica mediana es de 73,5% en la región de las Américas. (Khon, 2014, pp. 7-8)

Según la OMS se comprobó una prevalencia del 12% para el trastorno de ansiedad generalizada en 14 países en lo que se refiere a atención primaria. Los trastornos de ansiedad mantienen una elevada morbilidad debido a que no son tratados adecuadamente al ser infra diagnosticados. Los trastornos mentales aumentan cerca del 50% anualmente, afectando al 10% de la población mundial. Las emergencias humanitarias y conflictos, son un motivo para extender las alternativas terapéuticas.

La estimación de los costos de los trastornos psicológicos, en 36 países para el 2016- 2030 en asesoramiento psicosocial y farmacoterapia se elevan a \$ 147000 millones con lo cual se aumenta la productividad al 5% reflejándose en \$ 399000 millones. Sin embargo, estas cifras no se acercan a la inversión realizada en la actualidad según el Atlas de la Salud Mental de la OMS 2014, solo el 3% de los presupuestos sanitarios son destinados a salud mental, siendo el 1% para países con bajos ingresos y el máximo del 5% en países con ingresos altos. (Organización Mundial de la Salud, 2016, URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/es/>)

En el Ecuador según el Informe sobre Salud Mental de la OMS 2008, el país designa solamente el 1.2% del presupuesto del Ministerio de Salud Pública; del cual el 59% se asigna a hospitales

psiquiátricos. Los diagnósticos en hospitales psiquiátricos tienen la mayor prevalencia en esquizofrenia y a nivel ambulatorio son los trastornos de ansiedad.

El Ministerio de Salud de Ecuador coloca a la depresión y distimia en el área 11 de Salud Mental y Trastornos del Comportamiento; los cuales están dentro de las Prioridades de Investigación de Salud 2013-2017; siendo su principal objetivo optimizar los recursos para realizar investigación e influir positivamente para el mejoramiento de los actores de salud y alcanzar los objetivos planteados en el Buen Vivir. (Ministerio de Salud Pública Ecuador, 2016, pp. 3-24)

La ansiedad es un hábito emocional normal que lleva al equilibrio del ser humano, activa las operaciones defensivas, desarrolla la personalidad, contribuye al logro de metas y eleva el nivel de trabajo y conducta. En niveles elevados, puede llegar a ser dañina conduciendo a posibles enfermedades relacionadas. Habitualmente el término ansiedad se refiere a un estado temporal de tensión, miedo, anhelo que acarrea estrés. El tratamiento de la ansiedad va desde psicoterapia a tratamiento farmacológico con los objetivos de aliviar síntomas, evitar recaídas y secuelas. (Reyes-Ticas, 2016, p. 9)

El desarrollo de fármacos se ha estancado en los barbitúricos y benzodiazepinas. El margen terapéutico muy estrecho de los barbitúricos ocasiona sobredosis causando mortalidad, esto ha incluido salidas del mercado de benzodiazepinas como el tetrazepam por acusaciones de 648 efectos secundarios considerados como graves de la Agencia Nacional Francesa del Medicamento de la Unión Europea.

La OMS señala como efectos adversos más sobresalientes de las benzodiazepinas la sedación, debilidad muscular, vértigo, cefalea, depresión, trastornos visuales, alteraciones gastrointestinales todo esto se suma a que la suspensión de estos medicamentos causa síndrome de abstinencia. (Organización Mundial de la Salud, 2010, pp. 10-15)

El uso continuo de benzodiazepinas eleva el riesgo de desarrollar demencia; el porcentaje sube en 50 %, en personas que consumen estos medicamentos con respecto a personas que nunca las ha consumido. La revista BMJ (British Medical Journal) concluyó que el consumir ansiolíticos eleva la probabilidad de padecer Alzheimer al 50%. A lo largo del tiempo se ha encontrado dificultades en la búsqueda de nuevos fármacos ansiolíticos, antidepresivos más eficaces y

mejor tolerados. La psicofarmacología ha interactuado en la necesidad de obtención de nuevos fármacos, sin embargo faltan estudios que demuestren las mejores farmacoterapias a largo plazo. (Salazar et al, 2010, p. 12)

Una alternativa del tratamiento de ansiedad son plantas de la familia *Passifloraceae*; existen antecedentes de que especies de esta familia posee efectos ansiolíticos. Las especie *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* son típicas de la comunidad andina, frecuentemente se la encuentra en cualquier tipo de cultivo, crece en climas fríos y templados con alturas propias de la sierra ecuatoriana. El presente estudio de investigación tiene como objetivo determinar la dosis efectiva para actividad ansiolítica del extracto etanólico de hojas de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* en ratones *Mus musculus*; utilizando modelos de comportamiento como: Test de Cruz Elevado, Test de Campo abierto, Test de Cuarto Claro-Oscuro, Chimenea.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes de la investigación

Según Pichot (1999), el término ansiedad tiene origen latín, anxietas; el cual proviene de la raíz indoeuropea angh, la cual significa “no solo” y del vocablo ango que se refiere a angustia. Estos términos ansiedad/angustia eran utilizados a su vez para referirse a diferentes estados por lo cual se tenía cierta ambigüedad. En los últimos cien años se ha buscado conceptualizar los síntomas y manifestaciones de la ansiedad patológica. En el siglo XVII, la melancolía y la neurosis fueron estudiadas como patologías que afectan al sistema nervioso; aunque, el tratamiento más adecuado era el opio. (Sarudiansky, 2013, p. 20)

En 1952 se editó la primera versión del Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-I), en el que se incluía las reacciones fóbicas, obsesivas y de ansiedad. En 1895 con la influencia de Sigmund Freud comienza a desarrollarse conceptos de neurosis y ansiedad.

Freud entendió la ansiedad como una señal de peligro procedente de impulsos del individuo. Posterior la DSM-III diferenció la angustia y ansiedad generalizada. La última Clasificación Internacional de Enfermedades incluye los trastornos de ansiedad dentro de los trastornos neuróticos relacionados con el estrés incluyéndose las fobias, los estados de ansiedad. (Tonina Seres, 2010 pp. 5-8) (Rubio, 2010, p. 22)

A principios del siglo XX el tratamiento farmacológico para la ansiedad se empleaba el hidrato de cloral, anfetaminas, anteriormente a los primeros antidepresivos las herramientas farmacológicas eran mínimas. En la década de los 50 se desarrollan los antidepresivos tricíclicos (ADT), los barbitúricos fueron utilizados para la inducción del sueño y como

sedantes. Debido a su estrecho margen entre dosis útil y letal se iniciaron investigaciones para el descubrimiento de nuevos compuestos.

En la década de los 80 comenzó una nueva revolución en la terapia farmacológica de trastornos afectivos: Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS), Inhibidores Selectivos y Reversibles de la Monoaminoxidasa (RIMA), Antidepresivos Noradrenérgicos y Serotoninérgicos Específicos (NaSSA), Inhibidores de la Recaptación de Serotonina y Noradrenalina (IRNS) y agentes que combinan la inhibición de la recaptación de serotonina con el bloqueo de los receptores postsinápticos 5-HT₂ (nafazodona). (Salazar et al, 2010, pp. 128-130)

La búsqueda de nuevos fármacos que no actúen en la actividad locomotora, no posean efectos sedantes, no causen ataxia, dependencia y otros efectos adversos ha dado como resultado estudios con fármacos derivados de las benzodiazepinas como el imidazenil el cual actúa como un agonista parcial sin tener efectos adversos derivados. (Thompson et al, 1995, pp. 1307-1312)

El fármaco ELB139 considerado como agonista parcial utilizando el laberinto elevado, cuarto claro-oscuro, campo abierto demostró ser un fármaco óptimo para la ansiedad sin efectos adversos lo que lo convirtió en un fármaco recomendable para continuar con el estudio en humanos. (Lagen et al, 2005, p. 718-724)

Sin embargo, presumiblemente los estudios del ELB-139 han cesado debido a fines empresariales de ELBION NV, sin aparecer en la cartera de productos de investigación. (Monti et al, 2010 p. 42)

También se ha reactivado la utilización de terapias alternativas, como productos herbarios y drogas naturales. La medicina popular basada en plantas medicinales ha avanzado en las últimas décadas para el alivio de estos trastornos, lo cual significa un aumento de productos herbáceos cuyo efecto terapéutico se ha comprobado en modelos experimentales. En los últimos 50 años los modelos animales sirven para el tamizaje de plantas eficaces y seguras; permitiendo validar productos ya desarrollados. (Rejón-Orantes et al, 2011, p. 80)

La literatura científica ha descrito plantas con efecto ansiolítico y antidepresivos, además se estima que altos porcentajes de la población opta por productos “naturales” considerándose supuestamente seguros; aunque, las plantas tienen posibilidad de producir efectos adversos e interactuar otros medicamentos. Plantas como el *Hypericum perforatum* (hierba de San Juan) para tratar la depresión, *Ginkgo biloba*, utilizado para deterioros orgánicos cerebrales y *Piper methysticum* (Kava-kava), usado como ansiolítico; han sido estudiadas aunque su información es insuficiente para ofrecer eficacia y seguridad confiable. (Díaz et al, 2012, p. 20)

En 1996 la hierba de San Juan mediante un meta análisis publicado en British Medical probó su efectividad como fármaco antidepresivo. Numerosos ensayos abiertos y aleatorizados demostraron mejoría del 50% al 80% en contraste con fármacos tradicionales. En 2002 Kupfer DJ y Frank E. la compararon con sertralina y placebo en 340 pacientes; este estudio utilizó los criterios de Diagnóstico del DSM-IV y para medir la respuesta derivada se usó la Escala Clínica de Impresión Global y la Escala de Hamilton.

Los efectos adversos de la hierba de San Juan, han sido estudiados en 3250 pacientes por el investigador Woelk H. en 1994: un 2.4% del total presentó efectos adversos incluyendo síntomas gastrointestinales, alergias, fatiga, agitación, labilidad emocional, prurito, aumento de peso. (Sanabria, 2012, p. 33)

La valeriana fue utilizada desde la antigua Grecia para diversos males como convulsiones, insomnio, ansiedad. Tiene aceites volátiles, alcaloides; los efectos sedantes se le atribuye a monoterpenos y sesquiterpenos que se asocian a receptores GABA por lo cual se inhibe la recaptación de neurotransmisores; aunque, sus estudios no han dado resultados fiables.

El estudio del género Passifloraceae se ha extendido desde sus frutos, hojas, tallos. Las Passifloras más estudiadas son la *P. edulis*, *P. alata*, sin embargo aún no se conoce los mecanismos por los cuales actúan. En países de Sudamérica la infusión del extracto de partes aéreas *Passiflora edulis* es bebida para el tratamiento de epilepsia, relajante muscular, fiebre. Los estudios realizados con animales de experimentación han mostrado actividad hipertensiva, sin toxicidad; además potenciador del sueño, reductor de la actividad motora y posible efecto analgésico. (Taborda, 2013, p. 27)

La pasionaria (*Pasiflora incarnata*) compuesta por flavonoides, alcaloides, fitosteroles. Su fracción flavonoide ha demostrado un efecto estimulante y sus fitosteroles efectos ansiolíticos. Los estudios in vitro fueron favorables para su efecto inhibidor. (Sanabria, 2012, pp. 34,35)

Según Pinduisaca, 2016 los estudios fitoquímicos realizados en extracto de hojas *P. ligularis* han demostrado la presencia de vitexina 2''-O-glucosido, isoorientina, vitexina y quercetina 3''-O-glucosido. Según Paredes, 2016 en *P. mixta isovitexina, vitexina 1-ramnósido, isovitexina 2-O-ramnósido y orientina*. (Pinduisaca, 2016, p. 54)

Un único estudio sobre la evaluación ansiolítica de extracto metanólico al 100% de *P. ligularis* utilizando el test de laberinto, test de curiosidad, rotarod y chimenea demuestra efecto ansiolítico sin diferencia significativa comparable con Diazepam. (Pallo, 2010, p. 91)

El estudio de *P. ligularis* y *P. mixta* no se ha extendido en la parte farmacológica por lo que existe un vacío en el estudio de su perfil terapéutico.

La aplicación de los fitofármacos se debe realizar sobre estudios confiables en una base científica para lo cual la OMS ha definido pautas para su aprobación. Esta estrategia homogeniza los estudios experimentales para garantizar los productos herbolarios. (Ruiz, 2005, p. 8)

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Salud mental

La salud mental se define como un “estado de bienestar en el cual el individuo es consciente de sus propias capacidades, puede afrontar las tensiones normales de la vida, puede trabajar de forma productiva, fructífera y es capaz de hacer una contribución a su comunidad”. (OMS, 2010, URL: [http:// apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697_eng.pdf))

La salud mental al ser una parte indivisible de la salud, aporta de manera significativa a una plena participación social. Los trastornos mentales son una sustancial carga social y económica debido a su frecuente comorbilidad y la discapacidad que produce. Se considera la segunda causa de enfermedad en la sociedad, sin el debido pronóstico de su aumento. Los trastornos de ansiedad están dentro de los problemas mentales con elevada asociación de los niveles de incapacidad declarada. Esta disfunción impacta considerablemente el bienestar personal su desarrollo en lo laboral y social llegando a ser una condición inhabilitante al igual que cualquier enfermedad física crónica. (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010, p. 21)

La salud mental es parte fundamental de la salud integral del ser humano; su relación es proporcional al bienestar y productividad de los miembros de la sociedad. Se relaciona de diferentes formas:

- ✓ Es fundamental para el correcto funcionamiento de las personas, sus familias, naciones, regiones.
- ✓ Su efecto es recíproco a la productividad de la sociedad
- ✓ Abarca la vida cotidiana en cada hogar, trabajo y actividad realizada para recreación. De manera específica los trastornos de ansiedad son un conjunto de trastornos del ánimo; siendo estos los que más contribuyen a la morbi-mortalidad y afectan más a la economía mundial. (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010, p. 22)

1.2.1.1. Ansiedad

La ansiedad puede definirse como una “anticipación de un daño o desgracia futura”, acompañada de un sentimiento de disforia (desagradable) y/o de síntomas somáticos de tensión. Es una alerta al organismo sobre una amenaza para que el cuerpo tome medidas para enfrentarse. La ansiedad es una sensación habitual que ciertamente ayuda a sobrellevar las exigencias de las actividades diarias, cuando sobrepasa el límite normal se transforma en patológica influyendo en la vida cotidiana de la persona. (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010, p. 31)

Los trastornos de ansiedad afectan a la población adulta y son los más comunes en los servicios de primer nivel del mundo. Es diagnosticada más tempranamente con una mediana de 15 años de edad y su prevalencia está ubicada entre 25 y 45 años, siendo las mujeres la población más afectada.

1.2.1.2. Etiopatogenia de los trastornos de ansiedad

Anteriormente se decía que los trastornos de ansiedad se desarrollaban solamente a problemas intrapsíquicos. En la actualidad se define que su origen se debe a factores sociales, traumáticos, incluso biológicos. La mayoría de trastornos tienen su origen en anormalidades genéticas, la consecuencia de situaciones estresantes, conductas obsesivas, la asociación de todos estos factores se acerca a la etiología de la ansiedad.

Los factores que pueden favorecer la aparición del trastorno de ansiedad son:

- Factores Biológicos

Factores genéticos

La evidencia más clara de la influencia de este factor ha sido en el trastorno de pánico ya que aproximadamente el 30% - 40% de sujetos relacionados, tienen mayor tendencia cuando los dos progenitores sufren del trastorno. Estudios en gemelos monocigóticos se observa del 40 al 80% de predisposición, bajando el porcentaje al 20% de gemelos dicigóticos. En referencia a los trastornos de ansiedad no se ha demostrado su origen genético, ya que la evidencia no muestra relación en gemelos monocigóticos. (Reyes-Ticas et al, 2016, p. 29)

Ansiedad de separación

La ansiedad de separación lo experimentan algunos niños al alejarse de sus progenitores, esto puede acompañarse preocupaciones exageradas y trastornos de conducta. Investigaciones han descubierto que los adultos con trastornos de ansiedad especialmente agorafobia y trastorno de pánico, han sufrido de ansiedad de separación en su infancia. Incluso la personalidad de

personas más intranquilas y nerviosas se convierten en sujetos más inclinados a desarrollar este tipo de trastornos; además su pronóstico y remisión se retarda. (García et al, 2011, p. 12)

- Factores Psicológicos

Factores psicosociales

Los factores psicosociales son causantes, agravantes y precipitantes. Son problemas en relaciones académicas, interpersonales, en la familia; todos estos se asocian en la aparición de trastornos de ansiedad.

Factores traumáticos

Son acontecimientos fuertes que causan serio daño biológico cerebral como accidentes graves, desastres naturales, asaltos, agresiones de tipo sexual.

Factores psicodinámicos

La ansiedad provoca una línea defensiva para que el cuerpo adopte medidas, si la defensa tiene éxito la ansiedad desaparece y sino, la ansiedad se contiene presentando síntomas conversivos, fóbicos y compulsivos. (Reyes-Ticas, 2016, p. 30)

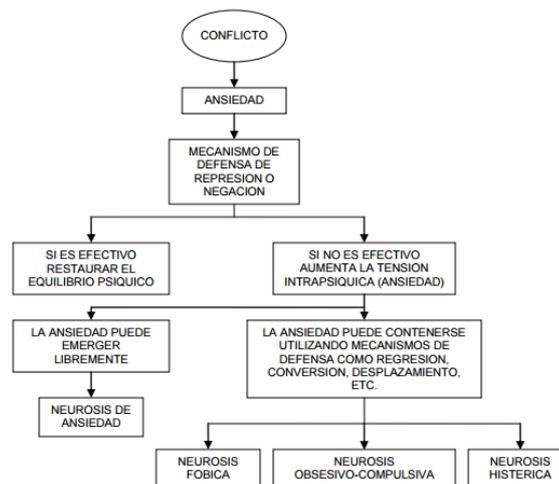


Figura 1-1 Esquema Psicodinámico de la Neurosis de Ansiedad

Fuente: (Reyes-Ticas, 2016 p. 31)

- Factores Cognitivos y Conductuales

Se dice que patrones cognitivos desequilibrados son antecedentes de conductas desadaptadas y trastornos emocionales. En pacientes con sistemas cognitivos negativos la ansiedad aparece por una baja valoración de potenciales personales y una elevada valoración de los estímulos del exterior. Un caso concreto de factor conductual tenemos una niña que observa a su madre el temor al realizar una actividad determinada; la niña desarrollará el temor a esa misma actividad. (Reyes-Ticas, 2016, p. 32)

- Medicamentos

Los medicamentos y otras sustancia pueden provocar ansiedad; resultado de efectos secundarios y reacciones adversas. Entre los principales tenemos agentes simpaticomiméticos, anfetaminas, anticonceptivos.

1.2.1.3. Trastornos de ansiedad

Los trastornos de ansiedad es un grupo de enfermedades, todas con presencia de preocupación, miedo, temor, tensión con significativo deterioro de la salud integral del individuo.

1.2.1.4. Síntomas

Se presenta de una forma irracional, muchas veces porque el estímulo no está presente, su intensidad es excesiva, recurrencia inmotivada. Entre los síntomas tenemos:

- ✓ Síntomas físicos:

Respiratorios: disnea. Vegetativos: mareo, sequedad de boca, inestabilidad sudoración. Cardiovasculares: palpitaciones, dolor precordial, taquicardias. Neuromusculares: tensión muscular, parestesias, temblor, cefaleas. Genitourinarios: problemas de la esfera sexual,

micción frecuente. Digestivos: vómitos, diarrea, náuseas, aerofagia, dispepsia, estreñimiento, meteorismo. Inhibición o bloqueo psicomotor

✓ Síntomas cognitivos conductuales y afectivos:

Inquietud desasosiego, preocupación, irritabilidad, sensación de agobio, aprensión, miedo a perder el control o sensación de muerte inminente, dificultad de concentración pérdida de memoria, conductas de evitación de determinadas situaciones, obsesiones o compulsiones. (García et al, 2011 p. 38)

✓ La ansiedad coexiste con diversas enfermedades médicas y psiquiátricas como:

Cardiovasculares: arritmia, insuficiencia cardíaca congestiva, postinfarto al miocardio, angina de pecho. Metabólicas: diabetes. Endócrinas: hipertiroidismo, hipotiroidismos, hipoglucemia, síndrome climatérico. Respiratorias: asma, neumonía, EPOC. Neurológicas o del SNC: epilepsia, migraña. Gastrointestinales: Síndrome de colon irritable, úlcera péptica. Psiquiátricas: esquizofrenia, depresión, trastornos de la personalidad. Otras: cáncer, fatiga crónica. (Consejo de Salubridad General, 2010, p. 13)

1.3.1.5. Severidad de los trastornos de ansiedad

Trastorno leve.- provoca una pequeña variación en las actividades diarias.

Trastorno moderado.- generan una alteración pero sin que llegue a ser severa.

Trastorno severo.- transforma sustancialmente los pensamientos del individuo que la padece generando disfuncionalidad, ideas suicidas u homicidas, desarrollando sintomatología psicótica. (Heinze & Camacho, 2010, pp. 7-8)

1.3.1.6. Tipos de trastornos de Ansiedad

Cada tipo de trastorno de ansiedad constituye una sintomatología pero se puede generalizar alrededor de un sentimiento de temor y miedo irracional en exceso. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 7-8).

Existen criterios utilizados universalmente para diagnosticar a una persona con trastorno de ansiedad; estos criterios se recogen en dos clasificaciones:

- Asociación de Psiquiatras Americanos, APA (DSM-IV- TR)
- Organización Mundial de la Salud, OMS. CIE-10.

La CIE-10 menciona los trastornos neuróticos (ansiedad) agrupándolos con trastornos relacionados con el estrés y somatomorfos. La DSM-IV-TR enumera doce trastornos de ansiedad.

Tabla 1-1 Clasificación de Trastornos de Ansiedad según el DSM-IV-TR y la CIE-10: equivalencias

DSM-IV-TR	CIE-10
	Trastorno de ansiedad fóbica
Fobia social	Fobias sociales
Fobia simple	Fobias específicas
Agorafobia sin crisis de angustia	Agorafobia
	Otros trastornos de ansiedad
Trastorno de angustia con agorafobia	Trastorno de angustia
Trastorno de angustia sin agorafobia	Trastorno de ansiedad generalizada
Trastorno de ansiedad generalizada	Trastorno mixto ansioso-depresivo
	Otro trastorno mixto de ansiedad
	Otros trastornos de ansiedad
Trastorno obsesivo-compulsivo	Trastorno obsesivo-compulsivo
	Reacciones de estrés y trastornos de adaptación
Trastorno por estrés postraumático	Trastorno por estrés postraumático
Trastorno por estrés agudo	Reacción por estrés agudo
	Trastorno de adaptación
	Continuará

Continúa	
	Trastornos disociativos
Trastorno de ansiedad inducido debido a una enfermedad medica	
Trastorno de ansiedad inducido por sustancias	
	Trastornos somatomorfos
Trastorno de ansiedad no especificado	Otros trastornos neuróticos

Fuente: (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010 pp. 32,33)

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

- Trastorno de pánico

Es una enfermedad tratable con el uso de tratamiento adecuado. Sus síntomas son ataques sorpresivos de terror acompañado de sudoración, mareos, decaimiento, latidos fuertes del corazón. En el momento del ataque también se siente calor o frío, dolor del pecho, irrealidad, miedo en todas sus formas, sienten que están sufriendo un ataque cardíaco. No se puede predecir cuándo sufrirán el próximo ataque por lo cual los pacientes sienten miedo intenso al pensar en el siguiente. Tienen una duración aproximada de diez minutos pero al empeorar el tiempo tiende a aumentar. El factor hereditario es un factor predisponente a desarrollar el trastorno.

En pacientes con ataques recurrentes y en su máximo nivel desarrollan incapacidad, este trastorno puede acarrear otro tipo de trastornos, por ejemplo si el ataque de pánico sucedió en un ascensor, el paciente acrecienta su temor a los ascensores. Las complicaciones de este trastorno se extienden a tal punto que el individuo no puede realizar actividades cotidianas como conducir un auto o ir de compras y tiempo posterior desarrollan agorafobia.

El diagnóstico de la enfermedad es pobre porque el paciente deambula una y otra vez por las salas de emergencia antes de que se dé tratamiento a su trastorno; esto se convierte en un obstáculo ya que el trastorno es totalmente tratable ya sea farmacológicamente o con psicoterapia. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 5-6)

Trastorno obsesivo compulsivo (TOC)

Son comportamientos o rituales que son usados para calmar la ansiedad, estas conductas terminan controlando la conducta del individuo. Algunas personas están obsesionadas con la suciedad por lo que continuamente tienen el impulso de lavarse las manos, otros con respecto a extraños se sienten acosados y atrancan las puertas de sus hogares por muchas ocasiones. Existe todo tipo de conductas extrañas como la obsesión de preocuparse por el orden, tendencia a acumular objetos innecesarios.

Los síntomas aparecen desde la infancia y tiene relación con factores hereditarios, afecta en igual número a hombres y mujeres. El avance del trastorno puede ser bastante variable ya que la sintomatología puede aparecer o desaparecer, algunos pacientes tratan de ayudarse a sí mismos lo que como consecuencia los induce al consumo de alcohol y drogas para sosegar sus síntomas. El tratamiento farmacológico y psicoterapéutico es muy efectivo. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 7-8)

Trastorno de estrés postraumático (TEPT)

Este trastorno progresa luego de una situación muy aterradora, sea que le afectó de manera directa o fue testigo de ella. No todas las personas con eventos traumáticos lo desarrollan y los síntomas deben durar más de un mes para ser considerado trastorno. La atención pública de este trastorno se realizó con los veteranos de guerra después de haber experimentado violaciones, tortura, secuestro, accidentes, desastres naturales. Los pacientes se paralizan mentalmente, se asustan con facilidad, presentan agresividad y hasta pueden convertirse en personas violentas.

La mayoría de pacientes recuerdan su evento traumático durante el día y en la noche tienen pesadillas, esta situación se llama escena retrospectiva; pueden llegar a pensar que el evento traumático está volviendo a suceder perdiendo el sentido de realidad. La enfermedad puede aparecer después de meses incluso años luego del trauma. Existe evidencia de que las mujeres son más sensibles al desarrollo de la enfermedad y que el trastorno puede ser hereditario. Su tratamiento es efectivo con fármacos y psicoterapia. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 10-11)

Fobia social

Se diferencia cuando la persona se siente ansiosa y con miedo intenso el cual se interpone en las actividades cotidianas como el trabajo y estudios. Puede dificultar la interacción con personas de su alrededor. Los pacientes se sienten incómodos y se preocupan incluso luego de la exposición; continuamente se preguntan la opinión de los demás hacia ellos. La fobia social se desarrolla en diferentes niveles como en preguntar algo, beber o definitivamente tener temor hacia cualquier persona que se le acerque. Los hombres y mujeres tienen la probabilidad de desarrollar este trastorno, el cual puede empezar en la infancia o adolescencia. Su tratamiento es efectivo con fármacos y cierto tipo de psicoterapia. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009 pp. 13,14)

Fobias específicas

Es un miedo irracional, algunas fobias son a las escaleras, túneles, agua, a volar, perros, arañas, entre otras. Las personas se dan cuenta de su miedo irracional; aunque, el solo pensar en el evento causa ansiedad excesiva o incluso ataques de pánico. Son más comunes en mujeres, aparecen en la niñez, adolescencia y se mantiene en la adultez. Usualmente las personas pueden esquivar la situación u objeto pero puede interferir en su desenvolvimiento. Las fobias responden a psicoterapia bien escogida.

Trastorno de ansiedad generalizada (TAG)

Son personas que pasan el día con tensiones excesivas, preocupaciones que en realidad no son significantes, no se pueden relajar y no pueden concentrarse. Su diagnóstico se basa en que los síntomas duren más de seis meses, son personas que no pueden conciliar el sueño ni mantenerlo, tiene fatiga, cefalea, temblores, tics nerviosos, sudoración, sienten que les falta de aire, dolores musculares.

Afecta a más mujeres que hombres, puede empezar en la infancia, adolescencia o en la adultez; comúnmente se evidencia la predisposición en la mediana edad. El tratamiento eficaz es la medicación o la psicoterapia. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009 p. 17-18)

1.2.2. Neurobiología de la ansiedad

La existencia de un sistema neuronal establecido en la filogenia es el responsable de preservar la vida mediante reacciones de huida, lucha, cólera, miedo, ansiedad y actividad sexual. Las estructuras anatómicas involucran al sistema límbico, comandado por la amígdala y el locus cerúleo, en conjunto con sus mecanismos químicos ayuda a una mejor comprensión de la bases neurobiológicas de la ansiedad.

1.2.2.1. Estructuras neuroanatómicas de la ansiedad

La amígdala

Es la estructura que coordina y regula las reacciones de alarma, está ubicada en el lóbulo temporal. Envía señales a la corteza prefrontal, sensorial, hipocampo, estriatum, hipotálamo, tálamo, núcleos dorsales del vago, núcleos parabranciales, locus ceruleus. Dichas proyecciones dirigen sistemas neurohumorales, autonómicos y musculosqueléticos asociados con respuestas de ansiedad y miedo. La amígdala es también un centro regulador que realiza la evaluación de los estímulos exteroceptivos e interoceptivos que inician las respuestas conductuales de alarma. Su función estaría mediada por receptores noradrenérgicos, benzodiazepínicos y 5HT-1A. (Reyes-Ticas, 2016 pp. 15,16)

Locus cerúleo

Contiene en su mayoría norepinefrina, su acción se regula por receptores GABA-benzodiazepínicos y serotoninérgicos. Recibe información de los estímulos internos y externos, la información interoceptiva llega al núcleo paragigantocelularis y el núcleo prepositus hipogloso. La información exteroceptiva ingresa por la corteza insular, orbital e infralímbica. Este se activa cuando la presión sanguínea se reduce, existe cambios en la termorregulación, recibe estímulos nocivos o amenazantes. Siendo este importante para la supervivencia de las personas.

Tálamo

Funciona como un canalizador de los estímulos ambientales hacia la corteza. Se ubica en el centro del diencefalo. Al existir una lesión en este órgano la reacción de miedo desaparece.

Hipotálamo

Activa el sistema simpático involucrándose en la liberación neuropéptica y neuroendocrina genera la segregación de corticotropina, vasopresina y oxitocina. El hipotálamo es uno de los componentes del diencefalo, se localiza desde la región óptica hasta los cuerpos mamilares.

Substancia gris periacueductal

Al existir un estímulo muy peligroso es canalizado a la amígdala, desarrollando actividad defensiva en la sustancia gris periacueductal lateral; sin embargo, un peligro menor causa un "congelamiento" de la sustancia gris periacueductal ventrolateral.

Hipocampo

El hipocampo mantiene conexiones con el sistema límbico y áreas corticales, posee receptores 5HT-1A el cual es controlado por sus agonistas como la buspirona; esta estructura tiene un papel importante en el control de la ansiedad

Corteza orbitofrontal

La corteza orbitofrontal al recibir las interacciones recíprocas del sistema límbico e información sensorial interpreta los eventos significativos, los selecciona y planea el comportamiento de respuesta frente a la eventual amenaza. Su estructura tiene elevada densidad de receptores 5HT-2 por lo cual se presume su involucramiento en los sentimientos del individuo.

1.2.2.2. *Mecanismos neurobiológicos involucrados en los trastornos de ansiedad*

Hiperactividad adrenérgica

Diversos estudios comprueban que el sistema noradrenérgico juega un papel importante en el origen de la ansiedad

- ✓ En el mono el estímulo eléctrico al locus ceruleus causa reacción de miedo similar al expresado en su hábitat natural.
- ✓ En individuos sanos se ha encontrado niveles elevados de noradrenalina, adrenalina después de un estrés emocional. La suspensión abrupta de antidepresivos y el síndrome de opiáceos, se asocian con el aumento de metohidroxifenilglicol (MHPG) en la orina y el líquido cefalorraquídeo.
- ✓ La administración de yohimbina bloquea los receptores alfa-2 adrenergicos presinápticos elevando la noradrenalina. Por lo cual si se la administra a pacientes con trastornos de pánico, produce ataques de pánico a diferencia de la clonidina que bloquea los ataques al ser este un agonista de alfa-2 adrenérgico, causa que el locus ceruleus disminuya su actividad.
- ✓ La fobia social esta mediada por la activación de los receptores beta adrenérgicos encontrándose estos receptores hipersensibles. El control de este trastorno se lleva a cabo con medicamentos beta-bloqueadores.
- ✓ La liberación en exceso de noradrenalina por el locus ceruleus y la amígdala, en animales en exposición a estrés severo puede ser prevenida con benzodiazepinas, clonidina y opiáceos
- ✓ La hipersensibilidad de los quimiorreceptores para el trastorno de pánico y la fobia social es diferente ya que genera respuestas diferentes.

Hiposensibilidad de los receptores gaba-benzodicepínicos

Los receptores GABA A y B asociados a los receptores benzodicepínicos abundan en el striatum, cerebelo, sistema límbico. El receptor GABA-A al ser activado disminuye la actividad neuronal dando una respuesta inhibitoria total. Sustancias con efecto ansiolítico probado son el etanol, benzodicepinas, ácido valproico éstas se unen al receptor benzodicepínico ubicado en el receptor GABA.

Disfunción serotoninérgica

Existen estudios que incluyen a la serotonina como factor para el inicio del trastorno de pánico, trastorno obsesivo compulsivo, y fobia social; sin duda la evidencia más clara es la efectiva acción de los inhibidores de la recaptura de la serotonina. Sin embargo, no se ha podido explicar si se debe a su déficit, exceso o a la sensibilidad de los receptores entre los cuales son 5HT (1A, 2A, 2C, 1D) ya que al estar segregados por todo el cerebro podría influir en distintas alteraciones.

Hiperactividad serotoninérgica

a. Hipersensibilidad de los receptores 5HT.

Sustancias agonistas como la fenfluramina y la m-clorophenilpiperazina son liberadoras de serotonina e inducen ataques de pánico en pacientes que tiene este trastorno. En este trastorno se supone que hay hipersensibilidad de los receptores 5-HT1D. En el trastorno de ansiedad generalizada existiría una hipersensibilidad de los receptores 5HT-2A y 5HT-2C, debido a que amitriptilina, clomipramina (inhibidores de la recaptura de la serotonina) e inhibidores de la MAO son usados como fármacos a elección para largo plazo.

b. Hiperactividad serotoninérgica en la corteza prefrontal.

En el trastorno de ansiedad la baja regulación de los receptores 5-HT1A provocaría el aumento de la liberación de serotonina y a su vez un efecto inhibitorio del GABA. El uso a largo plazo de la buspirona produciría una baja regulación de serotonina

Hipoactividad serotoninérgica

Una disminución de la serotonina activaría el locus cerúleo lo que produce síntomas de ansiedad. Se ha mostrado la disminución de los niveles de serotonina en el plasma, líquido cefalorraquídeo en trastorno de ansiedad generalizada y trastorno de pánico.

La serotonina con efecto ansiogénico y ansiolítico

Se ha propuesto que hay dos vías distintas con efectos contrastados. La primera vía de los núcleos dorsales hasta la corteza prefrontal provocan el miedo condicionado, la segunda vía va desde los núcleos dorsales hasta la sustancia periacueductal la cual inhibe el miedo no condicionado. La fobia social sería producida por una hiperactividad serotoninérgica y con la segunda vía provocaría el trastorno de pánico.

Desbalance serotonina/dopamina

La serotonina activa los receptores 5-HT_{1D}, 5HT_{2A}, 5HT_{2C} e inhibe la liberación de dopamina. En el trastorno obsesivo-compulsivo se supone un estado disminuido de serotonina provocando un elevado nivel de dopamina dicho desbalance causaría los síntomas compulsivos.

Disfunción dopaminérgica

Hay evidencia indirecta de que en la fobia social existe un nivel disminuido de la dopamina.

✓ Los fármacos dopaminérgicos tienen efectos positivos a pacientes con trastornos de ansiedad.

✓ Aparición de trastornos de ansiedad social luego del tratamiento con fármacos bloqueadores de dopamina.

✓ En la enfermedad de Parkinson se eleva la frecuencia de fobia social. (Reyes-Ticas, 2016, pp. 20-28)

1.2.3. Tratamiento de la ansiedad

La medicación, tipos de psicoterapia o su combinación son utilizados para el tratamiento de los trastornos de ansiedad. Antes de cualquier tipo de tratamiento un médico debe realizar un diagnóstico diferenciado, debe tomarse en cuenta la combinación de trastornos e incluso cualquier enfermedad ya existente. El alcoholismo, la depresión son enfermedades ya existentes que deben ser tratadas previamente al tratamiento del trastorno de ansiedad. (American Psychological Association, 2010, p. 18)

Generalmente los pacientes con trastornos de ansiedad generalizada requieren dos tipos de tratamientos consecutivos uno agudo para seis meses de tratamiento y un tratamiento crónico de seis meses para evitar recaídas. Por esto es necesaria la buena elección de los fármacos a utilizarse; que tengan una baja probabilidad de abuso, buena tolerabilidad y empiecen su efecto terapéutico en el menor tiempo posible. En pacientes que tengan enfermedades concomitantes se debe mostrar su eficacia a las patologías asociadas y así mejorar la calidad de vida del individuo.

1.2.3.1. Tratamiento no farmacológico

La psicoterapia es un tratamiento no farmacológico que en la mayoría de las personas ha disminuido e incluso eliminado la sintomatología del trastorno de ansiedad. La psicoterapia involucra el manejo de los síntomas con ayuda de un profesional capacitado, para descubrir el origen psicológico de la ansiedad. Es importante mencionar que los efectos terapéuticos se mostrarán después de algunas sesiones de recuperación. Este tratamiento ha sido muy efectivo en personas con esta patología lo que ha permitido insertarlos nuevamente a la sociedad con total control de sus vidas.

Por ejemplo, pacientes con el Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC) que le temen a la suciedad y a los gérmenes como tratamiento se recomienda el ensuciarse las manos; extendiendo cada vez el tiempo en que deben aseárselas. A pacientes con fobia social se les expone a eventos sociales sin dejarlos escapar de esta situación atemorizante; esto amenora la sintomatología. En el trastorno post traumático se orienta al apoyo del recuerdo de los eventos causantes del trastorno. Parte de esta terapia es la enseñanza de tipos de respiración y técnicas de relajación que en el momento adecuado ayuda a la eliminación de síntomas de los trastornos de ansiedad más frecuentes. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 24-27)

Este tipo de tratamientos no dan los mismos resultados en todos los pacientes, estos deben adecuarse a los requerimientos en dependencia del tipo de trastorno. Por esto se debe realizar evaluaciones periódicas en conjunto con el paciente y el profesional para los ajustes del plan de tratamiento.

La terapia cognitiva ayuda a entender los pensamientos que acarrearán a la sintomatología de los trastornos de ansiedad y a su vez reducen las recaídas e intensidad de los ataques. El tratamiento farmacológico y no farmacológico debe ser manejado por un terapeuta y un médico. La terapia cognitiva-conductual se compone de dos elementos; la cognitiva que modula los patrones de pensamientos que inducen a temores y la conductual que hace la persona cambie sus reacciones al exponerse a situaciones amenazantes. Este tratamiento se caracteriza por ser interactivo y directo por lo que la colaboración del paciente y su predisposición al tratamiento es importante para aliviar el trastorno de ansiedad. Esta terapia es efectiva en períodos cortos del manejo de la ansiedad y depresión. Está indicada en:

Trastorno de ansiedad generalizada, pánico (con y sin agorafobia), trastornos obsesivo-compulsivo, trastornos de fobias específicas, fobia social. (American Psychological Association, 2010, p. 12)

1.2.3.2. Tratamiento farmacológico

La medicación mantiene los síntomas bajo control, es decir no cura los trastornos de la ansiedad. Este tipo de tratamiento tiene como objetivo aliviar síntomas, prevenir recaídas y evitar consecuencias posteriores. La prescripción es realizada por psiquiatras los cuales pueden dar psicoterapia o trabajar en conjunto con psicólogos, consejeros, trabajadores sociales. Con el fin de tener buenas respuestas al tratamiento, el médico debe basar el tratamiento en la edad, sexo, historial clínico, posibilidades de embarazo, debe informar acerca de efectos secundarios y reacciones adversas. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, p. 20).

1.2.3.2.1. Benzodiacepinas

El grupo de fármacos benzodiacepínicos combate la ansiedad desde su aparición hasta la actualidad siendo los de más alta prescripción en el tratamiento de la ansiedad; su efecto secundario más común es la somnolencia. Debido a que los pacientes suelen necesitar dosis

más elevadas al transcurrir el tiempo, se prescriben por lapsos de tiempo cortos, especialmente a personas con antecedentes de dependencia al alcohol o drogas. Aunque, los pacientes con trastorno de pánico pueden tomar benzodiacepinas hasta un año. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, p. 28)

En la década de los cincuenta se desarrollaron las benzodiacepinas, en 1960 se patentó el metaminodiazepóxido, siendo esta la primera benzodiacepina, aunque con el transcurso del tiempo su nombre se cambió a clordiazepóxido. El diazepam fue patentado en 1963, siendo el fármaco con mayor potencial ansiolítico en contraste con el clordiazepóxido. Los derivados benzodiacepínicos en diferentes formas, en la actualidad se encuentran sus derivados como el oxazepam, clonazepam, alprazolam, y bromazepam entre otros. (Barreto, 2003, pp 12-13)

La potencia de las benzodiacepinas es diferente entre sí, de tal forma que la potencia de una varía hasta 20 veces de otra benzodiacepinas. Por ejemplo, 0.5 mg de alprazolam es equivalente a 10 mg de diazepam; en consecuencia al tomar 6 mg de alprazolam significa tomar 120 mg aproximadamente de diazepam. Estas diferencias son importantes al cambiar de un fármaco a otro; sin embargo los médicos no toman en cuenta estos contrastes. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

Tabla 2-1 Las benzodiacepinas y medicamentos similares

Benzodiacepinas ⁵	Vida media (en horas) ⁴ [metabolito activo]	Objetivo de comercialización ²
Alprazolam (Xanax, Alplax)	6-12	a
Bromazepam (Lexotanil)	10-20	a
Clordiazepóxido (Librium)	5-30 [36-200]	a
Clobazam (Frisium)	12-60	a,e
Clonazepam (Clonopin, Rivotril)	18-50	a,e
Clorazepate (Tranxene, Nansius)	[36-200]	a
Diazepam (Valium)	20-100 [36-200]	a
Estazolam (ProSom)	10-24	h
Flunitrazepam (Rohipnol)	18-26 [36-200]	h
Flurazepam (Dalmane)	[40-250]	h
Halazepam (Paxipam, Alapryl)	[30-100]	a
Ketazolam (Anxon)	30-100 [36-200]	a
Loprazolam (Somnovit)	6-12	h
Lorazepam (Ativan)	10-20	a
Lormetazepam (Noctamid, Loramet)	10-12	h
Medazepam (Nobrium)	36-200	a
Nitrazepam (Mogadon)	15-38	h
Nordazepam (Nordaz)	36-200	a
Oxazepam (Serax, Serenid, Serepax)	4-15	a
Prazepam (Centrax)	[36-200]	a
Quazepam (Doral, Quedorm)	25-100	h
Temazepam (Restoril, Normison)	8-22	h
Triazolam (Halcion)	2	h
Fármacos non-benzodiacepínicos con efectos similares^{4,5}		
Zaleplon (Sonata)	2	h
Zolpidem (Ambien, Stilnoct)	2	h
Zopiclona (Zimovane, Imovane)	5-6	h

Fuente: (<http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

1. Vida media.- es el tiempo que dura hasta que la concentración del metabolito disminuye a la mitad en la sangre, esto puede variar de un individuo a otro. 2. Objetivo de comercialización.- las benzodiazepinas se encuentran de tres formas; ansiolíticos (a), anticonvulsivos (e), hipnóticos (h). 3. Son fármacos químicamente diferentes a las benzodiazepinas, sin embargo producen el mismo efecto terapéutico. 5. Son medicamentos para uso de 3-4 semanas como máximo.

Mecanismo de acción

El receptor postsináptico GABA, ionotrópico, localizado en la parte exterior de la neurona posee canal de cloro formado de 5 subunidades. El metabolito al unirse al receptor abre dicho canal permitiendo la entrada de iones con carga negativa (cloro). Estos iones debilitan la acción de la célula frente a otros neurotransmisores que en condiciones fisiológicas, la estimularían. En consecuencia la célula se hiperpolariza y produce el efecto de inhibición.

Existen receptores benzodiazepínicos que están localizados en los receptores GABA, la unión de una benzodiazepina con un receptor aumenta la acción del neurotransmisor GABA; como consecuencia el GABA disminuye los neurotransmisores excitativos a nivel cerebral como la serotonina, acetilcolina, noradrenalina.

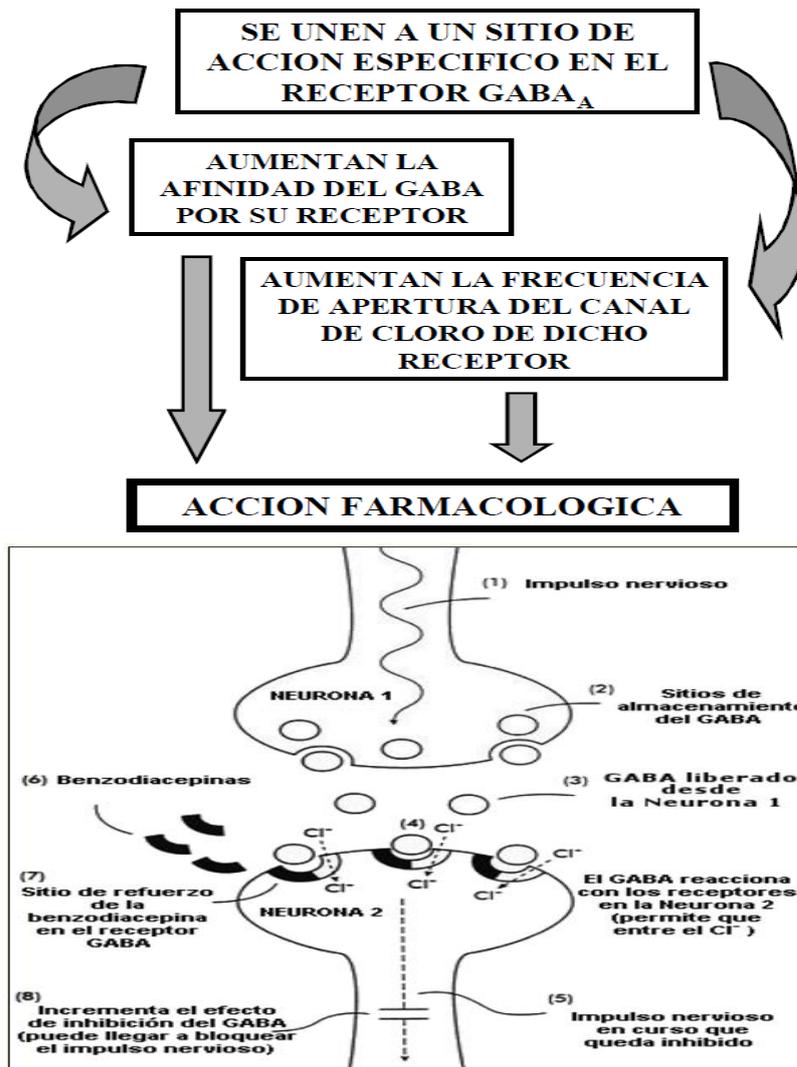


Figura 2-1 Mecanismo de acción de Benzodiacepinas

Fuente: (<http://www.benzo.org.uk/esman/bzcha01.htm#6>)

(1,2) El impulso nervioso hace que el GABA se libere a los sitios de almacenamiento de la neurona 1. (3) El GABA se libera al espacio interneuronal. (4) El GABA llega y activa los receptores la neurona 2 y permite que los iones de cloruro (Cl^-) ingresen en la neurona 2. (5) El efecto impide que el impulso nervioso continúe. (6,7) Las benzodiacepinas reaccionan en el sitio de refuerzo. (8) La acción aumenta la inhibición debido al GABA; el impulso nervioso queda bloqueado temporalmente o incluso definitivamente. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/esman/bzcha01.htm#6>)

Existen 3 subtipos de receptores, diferenciándose entre sí por su ubicación, afinidad de ligandos y estructura.

- ✓ BZ1: se encuentra en mayor porcentaje en la corteza cerebral, cerebelo, hipocampo; mantiene mayor afinidad con el fármaco zolpidem.
- ✓ BZ2: tiene elevada afinidad a todos las benzodiazepinas, está ubicado en la médula espinal, hipocampo, corteza cerebral.
- ✓ BZ3: tiene elevada afinidad a todos las benzodiazepinas, se ubica en riñón, testículo, hígado, en el Sistema Nervioso Central, membranas mitocondriales y se ha mostrado que está implicado en el efecto hipnótico de los esteroides neuroactivos.

Todos los fármacos benzodiazepínicos se disponen en menor o mayor grado con estos tres subtipos de receptores. (Barreto, 2003, pp. 2-8)

Efectos terapéuticos

Los efectos terapéuticos de las benzodiazepinas pueden ser ansiolíticos, hipnóticos, anticonvulsivos, miorrelajante, amnésico. El efecto ansiolítico se debe a la acción en áreas corticales; este efecto se usa en ansiedad, fobias y trastornos de pánico. Su efecto hipnótico se debe a la acción de la benzodiazepina en la formación reticular, este efecto es aplicado en trastornos que afectan el sueño. El efecto convulsivo es causado por la acción sobre el tronco encefálico y la corteza cerebral. Se usa en determinadas formas de epilepsia y en intoxicación por ingesta de drogas.

El efecto miorrelajante actúa sobre la médula espinal y se usa para efectos musculares. El efecto amnésico tiene acción sobre el hipocampo y es usado en premedicación para cirugías. La mayoría de efectos terapéuticos mencionados son compartidos por todas las benzodiazepinas. Las indicaciones del médico generalmente se deben a las características cinéticas del fármaco. Se pueden mencionar las benzodiazepinas clasificadas por su nivel de potencia, tiempo de duración

- Baja potencia y corta duración de acción (oxazepam).

- Baja potencia y larga duración de acción (diazepam, clordiazepóxido).
- Alta potencia y larga duración de acción (clonazepam).
- Alta potencia y corta duración de acción (alprazolam, midazolam, lorazepam).

Son indicadas en:

Trastorno por estrés postraumático. Trastorno de ansiedad generalizada. Trastorno obsesivo compulsivo. Trastorno de angustia (ataques de pánico). Insomnio. Ansiedad situacional o debida a enfermedad médica (ej.: postquirúrgico). Fobia simple (ej.: miedo a viajar en avión). Fobia social. Cuadros de depresión con ansiedad. Cuadros de abstinencia alcohólica y catatonía. Acatisia inducida por neurolepticos (Barreto, 2003, pp. 10-12)

Efectos adversos

La excesiva sedación, somnolencia, falta de concentración, mareos, personas dosis dependientes son efectos no deseados de las benzodiazepinas. Cuando la toma de benzodiazepinas se realiza buscando un efecto somnífero, este efecto se mantiene hasta el día siguiente presentándose como una resaca, especialmente en fármacos que tienen eliminación lenta. No obstante se puede manifestar un fenómeno llamado “tolerancia”, en el cual los pacientes luego de tomar un tiempo aproximado de dos semanas ya no presentan síntomas de somnolencia durante el día. La sedación en exceso se muestra en mayor porcentaje en personas de edad avanzada, han sucedido estados de confusión agudos e incluso se eleva el riesgo de caídas y fracturas.

Las benzodiazepinas tienen efectos marcados sobre la memoria y aumenta el riesgo de muerte al asociarse con otros fármacos como hipnóticos, sedativos, antidepresivos, neurolepticos, anticonvulsivos y opiáceos. El efecto amnésico es aprovechado en la premedicación de intervenciones quirúrgicas, la BZD más utilizada es el midazolam, por ser un fármaco de breve acción.

Frecuentemente las benzodiazepinas se indican en casos de estrés, lo cual da sensación de sanación; no obstante, su administración por un período extenso impide la adaptación del

individuo a la situación traumante que debe superar. Por ejemplo, un individuo que perdió un ser querido y toma benzodiazepinas, el fármaco impide que desarrolle su duelo.

Los efectos paradójicos estimulantes, en ocasiones las BZD provocan síntomas contradictorios como aumento de la ansiedad, irritabilidad, comportamiento agresivo o hiperactivo, y aumento de número de convulsiones. Incluso se han reportado agresiones físicas llegando a consumir homicidios principalmente luego de la administración intravenosa. Siendo más frecuentes los episodios de irritabilidad en individuos de edad avanzada y niños.

La depresión se muestra en mayor número en personas que consumen benzodiazepinas por un periodo largo, alcohólicos, adictos. Las benzodiazepinas son causantes o agravantes de depresión por la disminución de noradrenalina y serotonina, incluso aumenta el riesgo de suicidio en pacientes que padecen de ansiedad y depresión.

La anestesia emotiva es un síntoma frecuente en individuos con uso extendido de benzodiazepinas, se manifiesta como la imposibilidad de desarrollar los sentimientos de placer o dolor. Este síntoma está relacionado a que las benzodiazepinas inhiben centros cerebrales. El uso de benzodiazepinas podría ser la causa de separación familiar debido a falta de empatía con sus cónyuges o hijos.

Los efectos de las benzodiazepinas son más recurrentes y marcados en edad avanzada, debido al metabolismo ineficiente y lento haciendo que el efecto dure más tiempo y se acumule en el organismo. Los efectos pueden ser confusión, amnesia, deambulación nocturna, efectos tipo resaca. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

Con menor frecuencia, las benzodiazepinas pueden producir:

Trastornos menstruales, trastornos digestivos, aumento de peso, alteración de la función sexual, rash cutáneo (Barreto, 2003, pp.10-12)

Tolerancia, dependencia

La tolerancia puede surgir después de un consumo habitual de benzodiazepinas. Debido a que la concentración inicial ya no es suficiente; se receta cada vez más para obtener el efecto terapéutico deseado o incluso el médico indica una benzodiazepina adicional de tal modo que el individuo tome dos fármacos a la vez. Existe poca evidencia sobre la tolerancia que se desarrolla luego de meses de administración, si bien se ha podido mostrar que estos fármacos podrían agravar la situación de ansiedad de los pacientes. Los síntomas de ansiedad aparecen con mayor intensidad con el continuo consumo de benzodiazepinas incluso se llega a presentar ataques de pánico y agorafobia. Esta declinación de la sintomatología es causada por la tolerancia a efectos ansiolíticos, convirtiéndose en síntomas de abstinencia aunque el fármaco este en su organismo. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

Al realizar una suspensión brusca puede producir síntomas y signos como:

Recidiva: el cuadro de ansiedad reaparece al mismo nivel que en su inicio.

Rebote: cuando el cuadro de ansiedad reaparece con signos y síntomas de mayor intensidad que al inicio.

Abstinencia: se puede adicionar síntomas como hipertensión, trastornos gastrointestinales o convulsiones.

La dependencia a BZD puede provocar síntomas y signos por su suspensión, se desarrolla en un período de semanas hasta meses de uso recurrente. Este riesgo aumenta con el uso de estas drogas por un tiempo aproximado de 6 meses con dosis elevadas. Debido a esto se debe realizar una discontinuación del 25% por semana, inclusive en ciertos pacientes esta disminución de droga es muy vertiginosa. En estos casos se recomienda el cambio de una benzodiazepina de vida media no prolongada por otra con una vida media prolongada, las dos con la misma potencia.

Con menos frecuencia se observan casos de adicción, con comportamientos compulsivos a la obtención de estos fármacos. Se ha identificado mayor propensión a suicidios con el uso de benzodiazepinas, el mayor peligro es la combinación con sustancias como el alcohol, barbitúricos. La mezcla induce al sueño y el paciente puede dormir aproximadamente por 24 horas para lo cual se necesita un antagonista como el flumazenil. (Barreto, 2003, pp. 1-14)

1.2.3.2.2. Antidepresivos

Los antidepresivos han sido efectivos para los trastornos de ansiedad, aunque su desarrollo fue únicamente para el tratamiento de la depresión. Estas drogas cambian químicamente al cerebro a partir de la primera ingesta, sin embargo se debe dar un tiempo prolongado para que su efecto sea notable. Los efectos pueden desaparecer entre 4 y 5 semanas.

Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina

Los antidepresivos más recientes son los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRSs). La paroxetina, sertralina, fluoxetina, escitalopram, y citalopram son algunos de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina que se indican constantemente para el trastorno de pánico, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno estrés postraumático, fobia social y en la combinación de estos trastornos del trastorno de pánico con el TOC, depresión o fobia social. En el tratamiento de Trastorno de Ansiedad Generalizada se usa la venlafaxina, se indican inicialmente a dosis bajas y se sigue elevando gradualmente hasta obtener un efecto terapéutico deseado. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp 15-16)

Mecanismo de acción

La serotonina es un neurotransmisor monoamino sintetizado a partir del L- triptófano en el Sistema Nervioso Central y en el Sistema Digestivo en sus células enterocromafines. Su concentración depende del equilibrio entre la MAO tipo A que la destruye, su síntesis y el mecanismo de recaptura. Los receptores en el SNC (5-HT1 a 5-HT7) se encuentran esencialmente en el rafe medio del tallo cerebral; sus funciones regulan la vigilia, percepción del dolor, ingesta, vómito. La hipótesis sugiere que la serotonina está presente en menor cantidad debido a problemas genéticos. La inhibición de la recaptura del neurotransmisor aumenta la actividad del sistema en consecuencia da como resultado su efecto antidepresivo.

Reacciones adversas

Producen náuseas, nerviosismo los cuales suelen desaparecer al cabo de poco tiempo. Los pacientes pueden experimentar disfunción sexual por lo que el médico modifica la dosis o cambia de fármaco a otro tipo de antidepresivos. Otros síntomas son: diarrea, insomnio, inquietud, mareo. También se le asocia con osteoporosis con mayores eventos de fracturas y caídas.

El síndrome serotoninérgico posee alto potencial de muerte asociándose al consumo de fármacos que aumentan la mortalidad. El síndrome presenta síntomas en tres niveles:

1. Transformaciones en el estado mental como: confusión, nerviosismo, estupor, agitación.
2. Hiperactividad en el sistema autónomo como: taquicardia, taquipnea, náuseas, vómito, diarrea, hipertensión, hipotensión sudoración, escalofríos, fiebre, dilatación pupilar.
3. Fallos neuromusculares como: hiperreflexia, ataxia, acatisia, rigidez, mioclonias, temblores, falta de coordinación motora y convulsiones.

Síndrome de discontinuación

Sucede en individuos que toman antidepresivos por lo menos 6 semanas y lo suspenden de manera abrupta. Cuando se trata de fluoxetina se observa el síndrome entre el 9 y 14 %, en drogas como la paroxetina y sertralina se presentan con una frecuencia del 50 al 66%. El síndrome tiene una duración aproximada de dos semanas. Los síntomas más comunes son cefalea, parestesias, congestión nasal; el malestar desaparece inmediatamente luego de la administración del antidepresivo suspendido. La aparición de este síndrome depende del perfil farmacocinético. La paroxetina al ser un fármaco de vida media más corta tiende a generar este síndrome, a diferencia de la fluoxetina que tiene su vida media más prolongada. (Chávez-León et al, 2008 pp. 309-319)

Tricíclicos

Los tricíclicos son fármacos derivados del iminodibencilo o dibenzodiacepina; tienen dos anillos bencénicos, similar a la fenotiazina que en lugar del azufre esta un puente de etileno en la estructura del centro. Algunos compuestos son indicados en la ansiedad, por ejemplo la imipramina es recetada para el trastorno de pánico y el de la ansiedad generalizada. En el caso del TOC es indicada la clomipramina, los antidepresivos tricíclicos inician con dosis pequeñas y luego su dosis aumenta gradualmente.

Efectos adversos

Los efectos adversos tienen una incidencia del 5% aproximadamente, los mismos que son consecuencia del bloqueo de los receptores en los que actúan. Pueden nombrarse algunos:

1. Midriasis, mayor riesgo a desarrollar glaucoma, trastornos de acomodación visual.
2. Micción retardada, retención urinaria.
3. Efectos en el aparato digestivo: disminución de las secreciones, constipación, sequedad bucal, trastornos para hablar, el vaciamiento gástrico enlentece, interacción entre fármacos en el proceso de la absorción.
4. Efectos en el Sistema Nervioso Central: trastornos de la memoria, delirio, debilidad, confusión, sedación, fatiga, los barbitúricos o benzodiacepínicos se potencia.
5. Efectos en el aparato cardiovascular: taquicardia, hipotensión ortostática.
6. Trastornos de la función sexual: disminución de la libido, impotencia, anorgasmia.
7. Ictericia colestásica, aumento de peso, erupciones cutáneas, agranulocitosis, sudoración excesiva.

Los inhibidores de la monoamino oxidasa

Los inhibidores de la monoamino oxidasa indicados para los trastornos de ansiedad son la fenelzina, elisocarboxid, tranilcipromina, los dos últimos para la fobia social y el trastorno de pánico; este tipo de drogas también pueden producir el síndrome serotoninérgico.

Efectos adversos

Los pacientes que consumen los inhibidores de la monoamino oxidasa no deben consumir ciertos alimentos y bebidas como: queso, vino tinto, píldoras anticonceptivas, analgésicos, medicamentos para el resfriado, alergias; ya que estas sustancias al interactuar con los inhibidores de la monoamino oxidasa elevan la presión arterial. Otro tipo de efectos adversos son:

1. Mayor riesgo de crisis hipertensiva, síndrome tiramínico.
2. Hepatotoxicidad: ictericia hepatocelular.
3. Trastornos de la eyaculación y de la libido, irritabilidad, agitación, hiperreflexia, alucinaciones.

1.2.3.2.3. Terapias alternativas

Aromaterapia

Los aceites esenciales son aplicados sobre la piel desde la antigüedad, habitualmente para encontrar bienestar, y lidiar con enfermedades. Estudios han comprobado que los cuadros de estrés, hipertensión y ansiedad mejoran después del tratamiento. El poder de los aromas radica al llegar a las células olfativas de la nariz envía impulsos eléctricos estimulando la amígdala, lóbulo temporal, tálamo, hipotálamo hasta llegar a la hipófisis centro del sistema neurohumoral. (Pamplona, 2006, p. 52)

Los aceites esenciales más apropiados para combatir los síntomas de los trastornos de ansiedad son los siguientes:

Lavanda: es usado como sedante efectivo en problemas de insomnio, causa calma y relajación. Equilibra estados mentales como histerias y depresiones

Manzanilla: usado como antiinflamatorio, antiestrés, calmante de la tensión, combate el insomnio.

Bergamota: relaja, refresca, útil en casos de ansiedad, depresión, tensión.

Geranio: relajante, antidepresivo, tranquiliza la sobrecarga nerviosa y emocional, regula los cambios de humor.

Mandarina: sedante, calmante y da alegría.

Menta: despeja los pensamientos, da claridad mental.

Romero: da claridad mental, estimula la memoria, protector psíquico y estimulante físico.

Sándalo: antidepresivo y ansiolítico.

Fitoterapia

La fitoterapia está en pleno auge y está siendo cada vez más aceptada en toda la sociedad sin importar los estratos sociales. Este tipo de terapia tiene diferentes objetivos existiendo la fitoterapia preventiva, fitoterapia curativa sintomática y fitoterapia depurativa.

Algunas plantas medicinales ejercen acciones favorables sobre el Sistema Nervioso Central, causan menos efectos adversos y tienden a ser seguros con su correcta manipulación. De esta forma desde la antigüedad han sido usadas plantas con efecto ansiolítico y ahora están ganando mercado debido a ensayos preclínicos que prueban su eficacia. Algunas plantas son: romero (*Rosmarinus officinalis*), menta (*Mentha piperita*), ajedrea (*Satureja montana*), angélica (*Angelica archangelica*), ginseng (*Panax ginseng*), eleuterococo (*Eleuterococcus senticosus*), avena (*Avena sativa*), espino blanco (*Crataegus monogyna*), azahar (*Citrus aurantium*), lúpulo (*Humulus lupulus*), melisa (*Melissa officinalis*), tilo (*Tilia cordata*, *T. Platyphyllos*), hierbaluisa (*Lippia trphylla*), valeriana (*Valeriana officinalis*)

Existen otro tipo de terapias alternativas como la reflexología podal la cual manipula mediante masajes puntos específicos del pie para aliviar la tensión del cuerpo; equilibra las energías del cuerpo ya que en la ansiedad ocurre un desbalance. Se utiliza también masajes corporales para aliviar la tensión muscular, revitaliza el sistema inmunológico, más que nada la persona se siente sana, fuerte y con más energía.

1.2.4. Género pasiflora

El género *Passiflora* es el principal de la familia *Passifloraceae* de los 12 géneros existentes, puede desarrollarse en regiones tropicales hasta altitudes mayores a 3000 m.s.n.m., sin embargo la mayor cantidad están en zonas templadas, siendo en 90% nativas de América. Esta familia encierra un total de 400 especies conocidas aproximadamente, generalmente la mayoría son para uso ornamental o comercial. Las pasifloras comerciales para su consumo son las badea (*Passiflora quadrangularis*), maracuyá (*Passiflora edulis*), gulupa (*Passiflora edulis*) granadilla (*Passiflora ligularis*), y la curuba (*Passiflora mollisima*). (Carvajal-De Pabón et al, 2014, pp. 187)

En el ámbito farmacológico la *Passiflora* más conocida y estudiada es la *Passiflora incarnata*.

1.2.4.1. *Passiflora incarnata* (pasionaria)

También llamada flor de la pasión, pasionaria; sus partes aéreas son las más usadas. La pasionaria llamo la atención de los conquistadores europeos y fue cultivada como ornamental hasta que en el siglo XIX se descubrió su efecto sedante sobre el Sistema Nervioso Central y actividad ansiolítica. Su actividad ansiolítica ha sido comprobada en investigaciones. Es una hierba trepadora perenne, arbustos. Tallo terete, angulado, aplanado o alado. Hojas simples, folioladas, lobuladas; alternas. Estípulas laterales de lineares a foliares. Pecíolo a menudo con nectarios. Zarcillos axilares. Inflorescencias axilares, simples a ramificadas, flores solitarias o en pares.

Una de las investigaciones realizadas a doble ciego y con oxazepam a una concentración de 30mg/día para el tratamiento del Trastorno de Ansiedad Generalizada (TAG), con duración de 28 días; no determinó diferencia entre los dos tratamiento. Aunque el oxazepam aliviaba más

rápido los síntomas este no permitía que los pacientes realicen sus actividades cotidianas con normalidad a diferencia que el extracto utilizado. (Akhondzadeh et al, 2001 pp. 363-367)

Otro estudio de la *Passiflora incarnata*, doble ciego, controlado y aleatorizado comprobó la eficacia en el tratamiento del síndrome de abstinencia, mostrándose significativamente superior para el alivio de los síntomas psíquicos. A pesar de estos estudios la evidencia no suficiente para que se avale su eficacia en trastornos del sistema nervioso.

Compuestos

Contiene cantidades de alcaloides indólicos, flavonoides los cuales en combinación adecuada tienen acción somnífica, antiespasmódica, sedante.

Usos

Ansiedad y nerviosismo.- ansiolítico suave sin acarrear dependencia.

Insomnio.- provoca sueño naturalmente, y se puede administrar a niños debido a su baja toxicidad.

Dolores y espasmos.- relaja los órganos huecos como intestino, estómago, conductos biliares, vesícula.

Preparación.- La forma habitual es la infusión de flores con 30 gramos aproximadamente en un litro de agua, su ingesta debe ser de 2 o 3 tazas diariamente. En trastornos marcados se preparan infusiones más concentradas de hasta 100 g por litro. (Pamplona, 2006, pp. 78)

El extracto alcohólico al 40% de *P. tripartita var. Mollissima* ha mostrado efecto ansiolítico en ratones (*mus musculus*) expresado en mayor tiempo de permanencia en brazos abiertos. (Riofrío, 2014, pp. 97-98)

El extracto hidroalcohólico al 100 % de *P. quadrangularis* ha mostrado efecto ansiolítico en los test de laberinto elevado cero, enterramiento de canicas, campo abierto, cuarto claro-oscuro. Estudio en el que se comparaba su actividad con zoplicona. (Rea, 2014, pp. 108-109)

1.2.4.2. *Passiflora ligularis* (granadilla).-



Figura 3-1 *Passiflora ligularis* (granadilla)

Fuente: <http://conabio.inaturalist.org/taxa/166208-Passiflora-ligularis>

División Taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Violales

Familia: Passifloraceae

Género: Passiflora

Especie: *P. ligularis*

Distribución y hábitat

Está presente desde México hasta Bolivia y Argentina, en todas las montañas de los Andes. Se cultiva también en África y Australia en climas con temperaturas de 15-18°C, en altitudes de 1700 a 2600 msnm. Su crecimiento se puede dar en todos los meses con humedad relativa entre 60-80% en suelos con el pH alrededor de 5.5-5.6 (Sánchez, 2016, pp. 21-22)

Usos

Su principal uso es la comercialización de su fruto. Además en la medicina tradicional sus flores son utilizadas para el control de la epilepsia, sus frutos para tratamientos relacionados con la presión arterial, inductor del sueño, propiedades diuréticas e incluso desinflamatorio. (Carvajal-De Pabón et al, 2014, p. 193)

Características botánicas

Son plantas trepadoras, hojas pecioladas de magnitud aproximada de 10 cm de ancho por 12 cm de largo, flores péndulas de hasta 9 cm de diámetro, pétalos de color blanco y púrpura, su corona con cinco a seis series de filamentos. Sépalos de verdes a blanco rojizos. Fruto en baya, ovoide, de hasta 10 x 7 cm, al estar maduro es anaranjado con máculas pálidas a rojizo en estado maduro. (Esquerre-Ibañez et al, 2014, p.123)

Composición fitoquímica

La composición fitoquímica de flores y hojas varía en dependencia del tipo de extracto a utilizarse. En el extracto de flores utilizando extracción etérea existe presencia de aceites grasas, triterpenos, esteroides. En la extracción alcohólica existe alcaloides, lactonas, cumarinas, triterpenos, saponinas, taninos, flavonoides.

La extracción acuosa existe la presencia de alcaloides, saponinas, taninos, flavonoides, principios amargos. Los flavonoides presentes en flores vitexina 2^o-O-glucosido, orientenina, vitexina. Los fenoles totales presentes en extracto etanólico al 70% de flores son 122,22mg de ácido gálico/g de hojas secas y flavonoides totales en el mismo tipo de extracto son 54,33mg de quercetina/g de hojas secas

En el extracto etéreo de hojas existe aceites, grasas, lactonas, cumarinas. En la extracción alcohólica alcaloides, lactonas, triterpenos, catequinas, taninos, flavonoides. En la extracción acuosa existen alcaloides, taninos, flavonoides, principios amargos. Los constituyentes flavónicos corresponden a 3^o-O-glucosido, orientenina, vitexina.

Los fenoles totales presentes en extracto etanólico al 70% de hojas son 716,67mg de ácido gálico/g de hojas secas y flavonoides totales en el mismo tipo de extracto son 12,53 mg de quercetina/g de hojas secas. (Pinduisaca, 2016, pp. 24-25)

1.2.4.3. *Passiflora mixta*



Figura 4-1 *Passiflora mixta*

Fuente: <http://www.passionflow.co.uk/passiflora-mixta.htm>

División Taxonómica

Reino: Plantae

División: Angiospermas

Clase: Eudicotyledoneae

Subclase: Rósidas

Orden: Malpighiales

Familia: Passifloraceae

Género: Passiflora

Especie: *P. mixta*

Distribución y Hábitat

Crece a lo largo de las montañas de los Andes, de manera especial en Colombia, Ecuador y Venezuela, en altitudes promedio de 1700 a 3700 msnm, soporta ambientes secos, se desarrolla mayoritariamente en el borde de los bosques. (Sánchez, 2016, p. 24)

Características Botánicas

Posee grandes flores rosadas uniforme, campanulada, semierecta con un tubo alargado de 8 cm aproximadamente. Su fruto el fusiforme, verde amarillenta. Sus hojas son aterciopeladas, su pecíolo es poco denso. Tallo estriado angulado.

Usos

Su uso es exclusivamente alimenticio.

Composición fitoquímica

La composición fitoquímica de flores y hojas varía en dependencia del tipo de extracto a utilizarse. En el extracto de flores utilizando extracción etérea existe presencia de grasas, lactonas y cumarinas, triterpenos, esteroides. En la extracción alcohólica existe alcaloides, lactonas, cumarinas, triterpenos, catequinas, azúcares reductores, compuestos fenólicos, quinonas, antocianidinas, flavonoides, glucósidos cianógenos.

La extracción acuosa existe la presencia de azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, principios amargos. Los flavonoides caracterizados en flores son vitexina 1-ramnósido, isovitexina 2-O-ramnósido y orientina. Los fenoles totales presentes en extracto etanólico al 70% de flores son 2194,44 mg de ácido gálico/g de hojas secas y flavonoides totales en el mismo tipo de extracto son 1464,4 mg de quercetina/g de hojas secas.

En el extracto etéreo de hojas existe grasas, lactonas, cumarinas, triterpenos. En la extracción alcohólica existen alcaloides, lactonas, triterpenos, azúcares reductores, compuestos fenólicos, quinonas, antocianidinas, flavonoides. En la extracción acuosa existen azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, principios amargos. Los constituyentes flavónicos corresponden a isovitexina, vitexina 1-ramnósido, isovitexina 2-O-ramnósido, apigenina, orientina. Los fenoles totales presentes en extracto etanólico al 70% de hojas son 3777,8 mg de ácido gálico/g de hojas secas y flavonoides totales en el mismo tipo de extracto son 2605,6 mg de quercetina/g de hojas secas. (Paredes, 2016, pp. 35-41)

1.2.5. Modelos animales para el estudio de la ansiedad

Asumiendo que el miedo de los animales es equivalente al estado ansioso de los humanos, se realizan investigaciones que permitan emular los trastornos ansiosos en humanos extrapolándolos desde un reactivo biológico. La ansiedad ha tenido muchos años de investigación utilizando modelos animales, existen modelos con respuestas condicionadas y otras denominadas no condicionadas. (Polanco & Vargas -Irwin , 2011, p. 142)

1.2.5.1. Modelos de respuesta condicionada

Se basa en la respuesta específica a un estímulo el que generalmente es un choque eléctrico. Estos modelos controlan de manera precisa la conducta del animal. Se requiere varios grupos de control eliminando factores como el apetito, funciones motoras y el aprendizaje. Los animales necesitan un entrenamiento previo. Se menciona dos tipos dentro de este modelo.

El primero es el pavloviano o asociativo es el más antiguo y usado en su mayoría para el estudio de ansiedad dirigido a establecer los factores que influyen en la respuesta condicionada y sus mecanismos. Las investigaciones con este modelo ha contribuido con: el circuito del miedo

condicionado, la etiología de la ansiedad, explicación de la recaída y su tratamiento. El segundo es el condicionamiento instrumental u operante. (Polanco & Vargas -Irwin, 2011, p. 142)

1.2.5.2. Modelos de respuesta no condicionada

Su objetivo es encontrar respuestas fisiológicas ante estímulos estresantes, siendo las de mayor eficacia neurobiológicas. Son pruebas rápidas, sencillas, de bajo costo, no se requiere de descargas eléctricas, de entrenamiento, ni de privación de alimento o agua. A pesar de ser modelos de fácil uso, estudiar la conducta de los animales es más compleja que la de modelos condicionados. Las pruebas más utilizadas son el campo abierto, tabla de agujeros, laberinto elevado en cruz, caja con cuarto claro y oscuro, holeboard, interacción social, contraste negativo.

Laberinto elevado en cruz (EPM).- Es la prueba más utilizada para la investigación de la ansiedad. Se ha comprobado que los ratones manifiestan mayor temor en callejones abiertos y miedo al caminar en una superficie elevada. El aparato está compuesto por dos brazos cerrados, dos brazos abiertos y un área central. El animal se coloca en el área central y es observado por un tiempo determinado. Realizando mediciones de tipo espacio-temporal con el tiempo de permanencia en los espacios abiertos y el número de entradas a los brazos del instrumento. Este instrumento se encuentra validado en ratas, ratones, cerdos, ratones silvestres y hámster.

Campo abierto (OFT).- Busca determinar la respuesta cuando se exponen a un evento estresante que en este caso es un espacio abierto impedido por un muro sin posibilidad de escapar. Existen variaciones en el tamaño del campo, textura del piso, sonido adicional e iluminación. Las mediciones están basadas en la distancia recorrida, deambulación, ubicación del animal, movimientos corporales como el acicalamiento, olfateo, estiramiento, entre otras. Es usada para evaluar ansiedad y actividad psicomotriz. (Polanco & Vargas -Irwin, 2011, p. 142)

Caja luz/oscuridad.- Se fundamenta en que el ratón tiene cierta afinidad sobre la oscuridad huyendo de áreas claras. Su medición se basa en el tiempo de permanencia en el cuarto claro y su número de transiciones. (Rejón-Orantes, 2011, p. 83)

Chimenea.- Evalúa la actividad miorrelejante midiendo si el ratón puede dar marcha atrás en el tubo.

El uso de animales como fuente de información tiene años de uso. Se trata de animales con calidad genética, factores ambientales controlados; que nos puedan dar respuestas fiables y reproducibles.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

Esta es una investigación exploratoria, correlacional, con diseño experimental. Que se basa en la determinación de dosis efectiva de la *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta*. Inicia con la preparación de extractos etanólicos a diferentes concentraciones, para investigar in vivo. El experimento emplea ratones *Mus musculus*, evaluando la actividad ansiolítica mediante cuatro test; los resultados obtenidos se comparan frente a un fármaco tradicional.

El presente trabajo de titulación se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales y en el Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.1. Recolección de la materia vegetal

En la Figura 1-2 puede observarse el punto de recolección de la *Passiflora ligularis*, ubicado en la Provincia de Chimborazo, cantón Guano, sector Miraflores a una altura aproximada de 2670msnm. Las coordenadas en las que fue recolectada:

Latitud: -1.6045601689869464

Longitud: -78.62596392631531

Altitud: 2670 msnm



Figura 1-2 Punto de recolección de *P. ligularis*

Fuente: GPS

En la Figura 1-2 encontramos el punto de recolección de la *Passiflora mixta*, ubicada en la provincia de Chimborazo, cantón Penipe, parroquia La Candelaria, a una altura aproximada de 2641msnm. La muestra de pasiflora fue recolectada en las coordenadas:

Latitud: -1.5506338848979457

Longitud: -78.5308313369751

Altitud: 2641 msnm



Figura 2-2 Punto de recolección de *P. mixta*

Fuente: GPS

2.2. Materiales equipos y reactivos

Tabla 1-2 Lista de materiales, equipos, reactivos

Elaboración de extracto liofilizado				
Materiales		Equipos		Reactivos
Balones esmerilados	250	Balanza analítica.-	Balanza	Agua clorada
mL		electrónica		Alcohol etílico 85%
Espátula		Marca: RADWAG		Nitrógeno líquido
Trípode		Estufa.- Marca: Mermet		
Embudo simple		Molino de cuchillas.-	Marca:	
Algodón higroscópico		Arthur H. Thomas C.O		
Varilla de agitación		avapor.-	R 110	
		Sonicador .-	Marca: Branson	
		2510		
		Congelador		Continuará

Continúa	Liofilizador.- Marca: Thermo MicroModulyo Freeze Dryer		
Cuantificación de flavonoides			
Materiales	Equipos	Reactivos	
Balón aforado de 25 mL	Espectrofotómetro.-	S-2150	Nitrito de Sodio 5%
Tubos de vidrio 10 mL	Spectrophotometer		Tricloruro de aluminio 10%
	Agitador magnético		Hidróxido de sodio 1M Agua bidestilada
Cromatografía en capa fina (CCF)			
Materiales	Equipos	Reactivos	
Cuba cromatográfica	Cámara UV.- Chromato	Vue	Solución de 200 ppm de extracto liofilizado
Capilares	modelo cc20		Ácido acético glacial
Aspersor			Ácido fórmico
Placa cromatográfica	Vórtex		Cloroformo ACS
Micropipeta automática de 250 uL			Metanol
Puntas amarillas de 100 uL			Acetato de etilo
Evaluación de la actividad ansiolítica			
Materiales	Equipos	Reactivos	
Tubos de vidrio 10 mL	Balanza analítica.-	Balanza	Reactivo biológico:
Pera	electrónica		Ratones (<i>mus musculus</i>)
Pipeta aforada 2 mL	Marca: RADWAG	Balanza	hembras procedentes del Bioterio de la Universidad de Guayaquil
Bandejas de plástico	digital		Peso promedio: 25-35 g Sexo: hembras Edad: adultas Propilenglicol 15% Clonazepam 2,5mg/mL

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

2.3. Preparación de extractos

La metodología utilizada en el estudio se describe en el Gráfico 1-2.

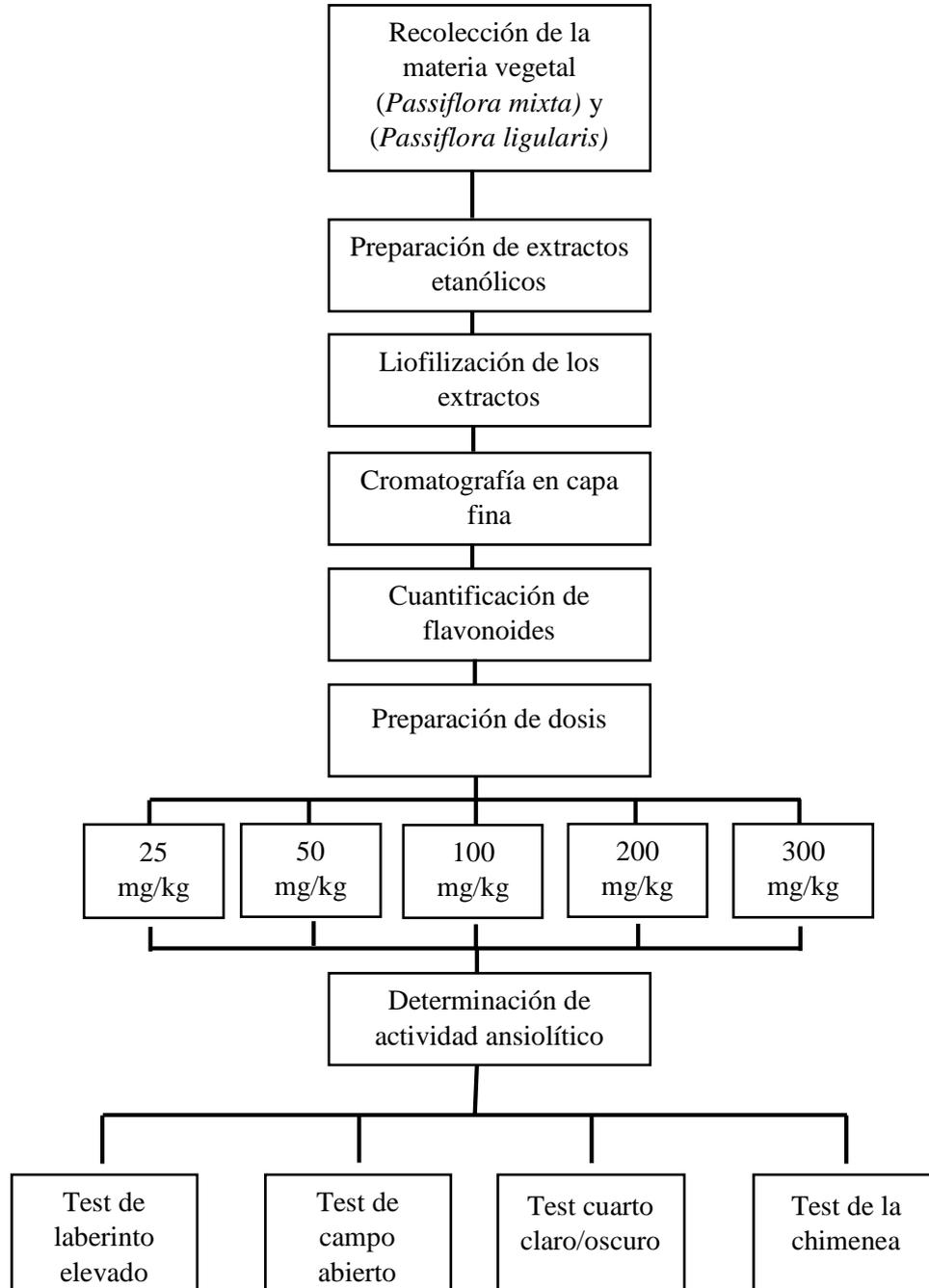


Gráfico 1.2 Diseño de trabajo para determinación de dosis efectiva para actividad ansiolítica

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

2.3.1. *Recolección, lavado, secado de materia vegetal*

Se recolectó la materia vegetal suficiente, verificando que se encuentre en condiciones óptimas para su uso. Fueron lavadas con solución de hipoclorito diluido, se eliminó el exceso de agua y se colocó en la estufa de aire caliente a 40°C.

Una vez seca, se trituro, tamizó, se almacenó en papel rígido evitando la ganancia de humedad hasta posterior uso.

2.3.2. *Elaboración de extractos liofilizados*

La preparación de extractos fue de acuerdo a (Carrión & García, 2010 pp 39-41), se preparó solución etanólica al 85%, y tomando 50g de materia vegetal de cada una de las especies de pasiflora se hizo una mezcla 1:5 etanólica, se dejó reposar 30 minutos, y se sonicó por un periodo de 30 minutos, se filtró la mezcla en algodón higroscópico con la ayuda del embudo simple y trípode. A continuación el filtrado se concentró en el rotavapor extrayendo el alcohol presente en la solución, reduciéndolo a 1/3 para luego filtrarlo por segunda vez. El filtrado se congeló durante 48 H. Se mantuvo la congelación con nitrógeno líquido reduciendo la temperatura de congelación formando así un cristal eutéctico. Se siguió el método del Gráfico 2-2.

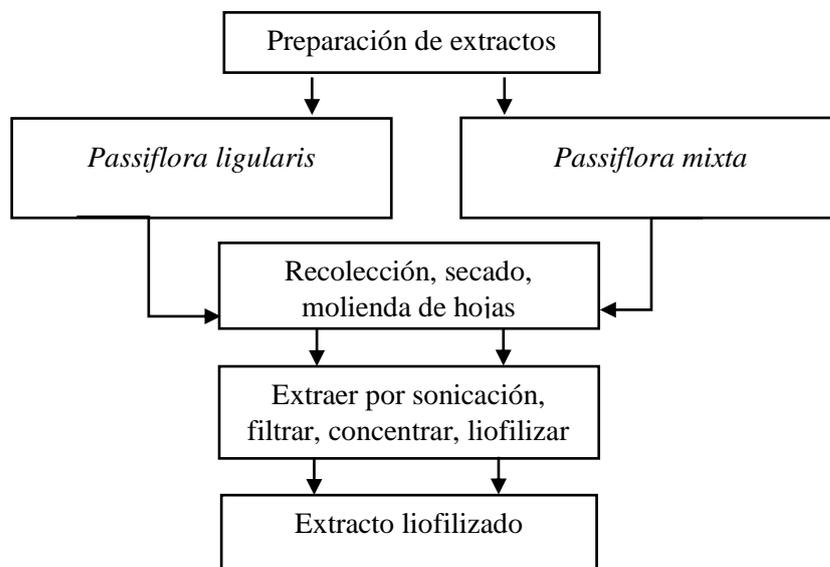


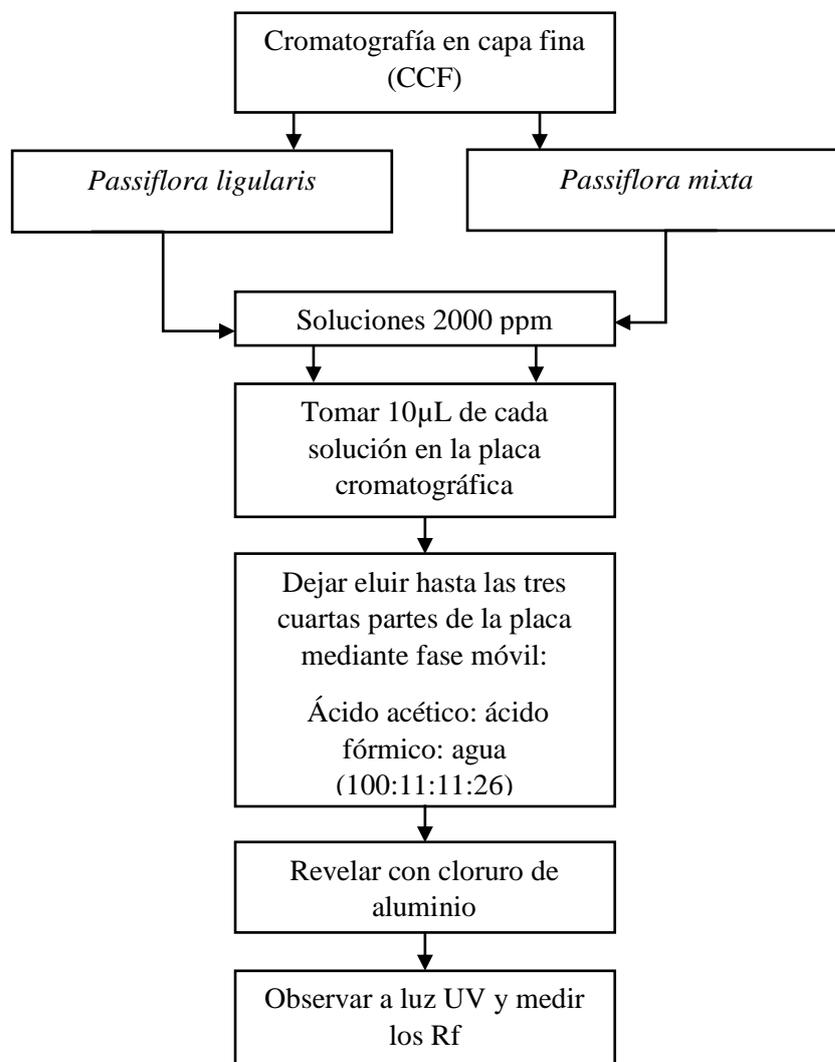
Gráfico 2-2 Flujograma para la preparación de extractos

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

2.4. Métodos y técnicas

2.4.1. Cromatografía en capa fina (CCF)

La cromatografía siguió la metodología para determinar glicósidos flavónicos (Gráfico 3-2). Se preparó soluciones alcohólicas de 2000 ppm, luego se procedió a sembrar 10 μ L con pipeta automática en una placa cromatográfica. Se introdujo la placa en la cuba, hasta que el solvente recorra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa; se utilizó la fase móvil ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26). Se retiró la placa y se dejó secar. Se reveló con cloruro de aluminio y observó en la cámara UV. Se midieron los Rf. (Wagner & Blade, 1996, p. 196)



Z

Gráfico 3-2 Flujograma de cromatografía en capa fina (CCF)

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

2.4.2. Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides en extractos liofilizado de cada especie fue medido por espectrofotometría en tres repeticiones y está basada en el estudio de Hua & Teik, 2012. Se realizó una solución de 200 ppm de la cual se tomó una alícuota de 200 μ L, luego se añadió 300 μ L de NaNO₂ al 5% p/v, se homogenizó, se dejó en reposo durante 5 min, luego se añadieron 300 μ L de AlCl₃ al 10% p/v, se agitó y se dejó en reposo durante 6min, para finalizar se agregó 300 μ L de NaOH 1M. La absorbancia de la reacción fue medida después de 6 minutos de la última adición, a 510 nm. La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración de rutina de 20 a 100 mg/L. Los flavonoides totales se expresan como miligramos de quercetina por gramos de extracto liofilizado. (Boukhris et al, 2013, pp. 1206-1213)

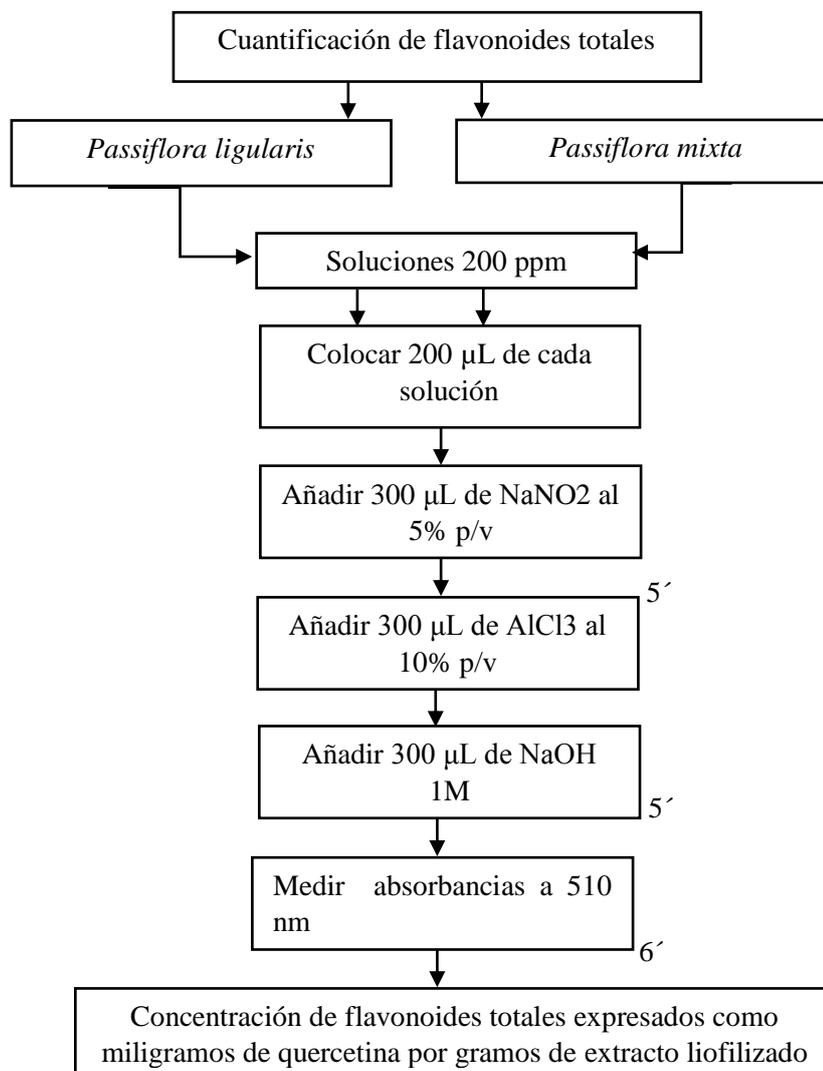


Gráfico 4-2 Flujograma de cuantificación de flavonoides totales

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

2.4.3. Determinación de la actividad ansiolítica

Los ratones *Mus musculus* obtenidos del Bioterio de la Universidad de Guayaquil fueron mantenidos por el lapso de un mes para su adaptación. Su cuidado fue de acuerdo a los principios básicos de las Buenas Prácticas de Laboratorio en el Bioterio. Se mantuvo control de parámetros como temperatura, humedad relativa, ciclo de luz-oscuridad.

La actividad ansiolítica fue determinada en 60 ratones, con alimentación y agua *ad libitum* antes de los ensayos. Fueron trasladados 30 minutos antes del experimento para favorecer su ambientación. El estudio siguió el mismo modelo en las dos pasifloras.

Tabla 2-2 División y codificación de grupos *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta*

	Concentración	Número de ratones	Código
Clonazepam	0,5 mg/kg	5	CONTROL
Propilenglicol	15%	5	BLANCO
<i>Passiflora ligularis</i> (PL)	25 mg/ kg	5	PLD1
	50 mg/ kg	5	PLD2
	100 mg/ kg	5	PLD3
	200 mg/ kg	5	PLD4
	300 mg/ kg	5	PLD5
<i>Pasiflora mixta</i> (PM)	25 mg/ kg	5	PMD1
	50 mg/ kg	5	PMD2
	100 mg/ kg	5	PMD3
	200 mg/ kg	5	PMD4
	300 mg/ kg	5	PMD5

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Los extractos liofilizados fueron reconstituidos con propilenglicol al 15% y se administró en dosis de acuerdo a la Tabla 2.2, El control positivo fue Clonazepam 0.5 mg/kg disuelto en el vehículo, al grupo blanco se administró propilenglicol 15%. Los tratamientos se administraron a cada ratón por única vez con volumen aproximado de 0,2 mL de disolución; se aguardó 30 minutos para la evaluación de los test de repuesta no condicionada.

La evaluación de actividad ansiolítica constó de 4 test realizándose de manera consecutiva en orden similar, en aparatos previamente desinfectados con solución de etanol al 10%; cada prueba fue grabada por un período de cinco minutos para la posterior observación del comportamiento del ratón. Los ensayos se efectuaron conforme al Gráfico 5-2

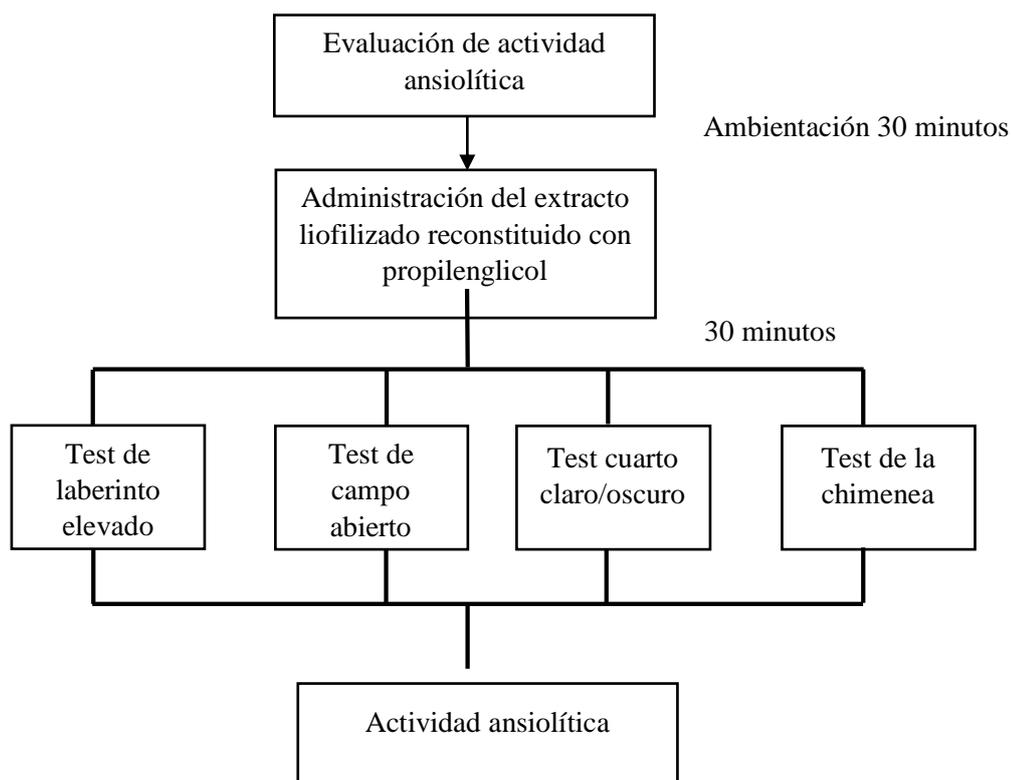


Gráfico 5-2 Flujograma para la evaluación de la actividad ansiolítica

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

La búsqueda de nuevos fármacos para los trastornos de ansiedad se ha encaminado hacia sustancias que aunque tengan efectos ansiolíticos no acarreen los indeseables efectos adversos sobre la actividad locomotora expresada en los seres humanos como sedación, es por eso que el estudio busca encontrar una dosis en la que el roedor no pierda su actividad locomotora pero mantenga su actividad ansiolítica. (Thompson et al, 1995, pp. 1307-1312)

Se realizaron 4 test para la determinación de dosis efectiva de las dos pasifloras.

2.4.3.1. Laberinto en Cruz Elevado (EPM)

El aparato de laberinto en cruz elevado está compuesto por dos brazos abiertos perpendiculares (30cm x 5cm) y dos brazos cerrados perpendiculares (30cm x 5cm x 25cm). Los brazos abiertos y cerrados se conectan por una plataforma central (5cm x 5cm). El laberinto se encuentra a 50 cm por encima del suelo. Treinta minutos después de la administración oral, el animal se coloca

en el centro del laberinto con su nariz en la dirección de uno de los brazos cerrados. El ratón fue filmado durante 5 min, y los siguientes parámetros fueron medidos:

- **Porcentaje de tiempo de permanencia en brazos abiertos (%PTBA):** 100(tiempo en brazos abiertos/total del tiempo de prueba). Se consideró el tiempo desde que las cuatro patas del roedor están en el brazo abierto.
- **Número de entradas en los brazos (EBA):** Se consideró como una entrada cuando el roedor tiene sus cuatro patas en el siguiente brazo, sea este abierto o cerrado.

Las mediciones son válidas cuando el animal tiene sus cuatro patas en el brazo siguiente. El aparato debe ser limpiado cuidadosamente con solución de etanol al 10% después de cada prueba. (Expósito, 1994, p. 131-132)

2.4.3.2. *Cuarto claro/oscuro*

El aparato de esta prueba es una caja de (45×27×27cm), construida de madera. Con un orificio rectangular de (7.5×7.5cm) que la divide en dos compartimentos; uno pequeño (18×27cm) pintado de negro y otro de (27×27cm) pintado de blanco. La prueba inició colocando el ratón en la parte clara de la caja. Se registró los movimientos del roedor por tiempo de 5 minutos.

El parámetro analizado fue:

- **Tiempo en el cuarto claro (TCC):** tiempo total en minutos que permanece en el cuarto claro. Se consideró a partir de que el roedor tiene sus cuatro patas en el cuarto claro. El aparato debe ser limpiado con una solución etanólica al 10%. (Cardozo et al, 2009, p. 326)

2.4.3.3. *Campo abierto*

El aparato de campo abierto es de madera contrachapada, con una de las paredes de policarbonato para facilitar la visualización. Tiene las dimensiones de 60cm x 60cm de color blanco, en su superficie está dividido en 16 cuadrados de 15cm x 15 cm con contorno negro y el del centro con contorno rojo. El test fue registrado en video durante 5 minutos.

Se midieron los siguientes parámetros:

- Cuadros recorridos (CRE): se tomó referencia los cuadrados recorridos en toda la superficie del campo abierto. Se consideró como cuadro recorrido cuando el ratón sale con sus cuatro patas.
- Tiempo en el centro (TCR): tiempo total en minutos de permanencia en el cuadrado central señalado con contorno rojo. (Polanco & Vargas -Irwin, 2011, p. 145)

2.4.3.4. Chimenea

Se requirió de un tubo de vidrio transparente de 28 mm y marcado a 20cm de un extremo del tubo. Se toma al ratón por la cola y se lo hace ingresar al tubo, hasta la marca. Inmediatamente se coloca el tubo sobre una superficie de tal forma que el ratón este vertical y con la cola hacia arriba. Un ratón en condiciones normales consigue subir en menos de 30 segundos.

- Tiempo que tarda en salir: es el tiempo en minutos que sale completamente del tubo. (Expósito, 2007, pp. 127-128)

La correlación de los test y sus variables medidas son determinantes para establecer la mejor dosis en las dos pasifloras. Se midieron las siguientes variables que determina un parámetro definido:

Tabla 3-2 Parámetros observados en el modelo de ansiedad

Test	Variable medida	Medición de:
Laberinto elevado en cruz	Entradas en los brazos (EBA):	Actividad locomotora. (Rodgers& Dalvi, 2002, p. 806)
	Porcentaje de tiempo de permanencia en brazos abiertos (PTBAB)	Actividad ansiolítica (Rodgers& Dalvi, 2002, p. 806) Continuará

Continúa Cuarto claro/oscurο	Tiempo en el espacio claro (TCC):	Actividad ansiolítica. (Litvin et al, 2008, 124)
Campo abierto	Cuadros recorrida (CRE)	Actividad locomotora. (Litvin et al, 2008, p. 324)
	Tiempo en el centro (TCR)	Actividad ansiolítica. (Litvin et al, 2008, p. 324)
Chimenea	Tiempo que tarda en salir (TQS)	Relajación muscular y tranquilizante (Vogel, 2002, p. 396)

Fuente: (Rodgers& Dalvi, 2002, p. 806; Litvin et al, 2008, 124; Vogel, 2002, p. 396)

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Se utilizó el software IBM SPSS iniciando con pruebas de normalidad donde se estableció la distribución normal de la muestra. El análisis de dosis se realizó con el test Anova y post hoc HSD Tukey y Duncan según corresponda. Para el análisis comparativo de especies de passifloras se utilizó el test T- student para muestras independientes. Posterior al estudio los animales de experimentación fueron sacrificados con éter.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se realizó el estudio obteniendo los siguientes resultados:

3.1. Porcentaje de rendimiento

Los extractos etanólicos al 85% liofilizados de hojas de *P. mixta* y *P. ligularis*; obtuvieron los siguientes rendimientos:

Tabla 1-3 Porcentaje de rendimiento de hojas de *P. mixta* y *P. ligularis*

MATERIA VEGETAL	Cantidad obtenida (mg de extracto liofilizado/g de hojas secas)	Porcentaje de rendimiento
<i>Passiflora mixta</i>	55,5 mg /g de hojas	5,55 %
<i>Passiflora ligularis</i>	49,6 mg /g de hojas	4,96 %

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Según estudios similares realizados el porcentaje de extracción de hojas de *P. ligularis* es del 59%. El porcentaje obtenido en las hojas de *P. ligularis* y *P. mixta*; es del 5,55% y 4.96 respectivamente. La diferencia entre estudios anteriores y el realizado se debe a la liofilización ya que resulta un compuesto sumamente reducido debido a la eliminación total de agua presente. (Pinduisaca, 2016, pp. 39)

3.2. Cromatografía en capa fina (CCF)

Se realizó la cromatografía en capa fina obteniendo los siguientes resultados:

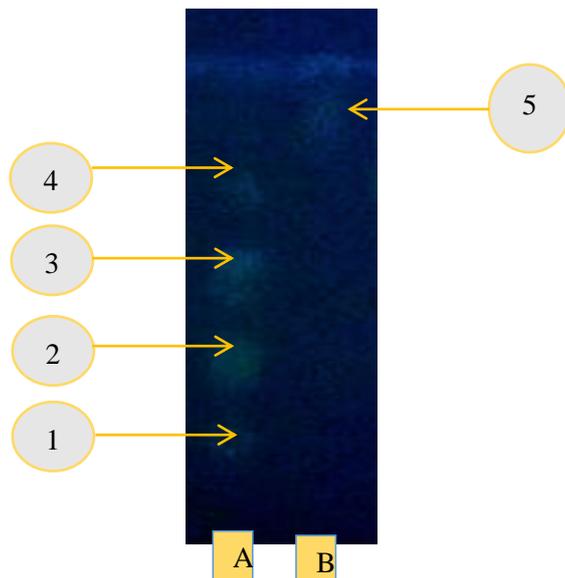


Figura 1-3 Cromatografía en capa fina (CCF) para flavonas glicosiladas

Cromatografía del extracto etanólico liofilizado de hojas para flavonoides de *Passiflora mixta* (A) y *Passiflora ligularis* (B) observada mediante lámpara UV cercano. Fs. Sílica Gel con fluorescencia a 254 nm, Fm: acetato de etilo: ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26). **Fuente:** GUAMÁN, Martha, 2016

Se obtuvo los siguientes Rf en el extracto liofilizado de hojas de *Passiflora mixta* (A) y *Passiflora ligularis* (B):

Tabla 2-3 Rf obtenidos mediante cromatografía en capa fina

Extracto etanólico al 85% de hojas para flavonoides de <i>Passiflora mixta</i> (A)		Extracto etanólico al 85% de hojas para flavonoides de <i>Passiflora ligularis</i> (B)	
Compuesto	Rf	Compuesto	Rf
1	0,15	5	0,81
2	0,30		
3	0,52		
4	0,64		

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Según bibliografía reportados por Wagner & Blade, 1996; los Rf de estándares puros de vitexina, orientina y compuestos relacionados son los siguientes:

Tabla 3-3 Rf de compuestos estándares

Compuesto	Rf
Vitexina	0,6-0,65
Isovitexina	0,54
Isovitexina-2''-O-ramnósido	0,41
Vitexina-2''-O-ramnósido	0,41
Vitexina-2''-O-glucósico	0,28
Isoorientina	0,46
Orientina	0,57
Schaftoside	0,80

Fuente: (Wagner & Blat, 1996)

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Relacionando los datos obtenidos con los datos de bibliografía en Wagner & Blade (1996) se puede presumir que el compuesto número 2 correspondería a Vitexina-2''-O-glucósico, el compuesto número 3 a Isovitexina, y el compuesto número 4 a Vitexina. Según un estudio de Rafaelli (1997) en *P. incarnata* existe presencia de schaftoside y comparando el rf de referencia en Wagner & Blade (1996) el compuesto número 5 correspondería a schaftoside, concordando esto con la metodología utilizada para flavonas glicosiladas. (Rafaelli et al, 1997, p. 225) (Wagner & Blade, 1996, p. 230)

Según Woulthmun en *Pharmacognosy and Chemotypes of Passionflower*, estudio realizado para la caracterización de quimitipos de *P. incarnata*, en extractos metanólicos utilizando diferentes tipos de CCF concluye con la identificación de vitexina, isovitexina, schaftoside, isoeschaftoside. Un estudio en *P. mixta* realizado en las mismas condiciones realizadas demuestra la similitud en los rf de compuestos de vitexina, vitexina-2''-O-glucósico, isovitexina (Wohlmut, 2010, pp. 1015-1018) (Paredes, 2016, p. 38)

3.3. Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales se realizó con tres repeticiones, mediante espectrofotometría e interpolación de las absorbancias en una curva de calibración de estándar

de quercetina cuya ecuación de la recta fue $y = 0.001x + 0.0015$ y coeficiente de relación $R^2 = 0.999$, con estándar de quercetina.

Tabla 4-3 Resultados de cuantificación de flavonoides totales

Extracto	Flavonoides totales expresados como mg equivalentes de quercetina/g extracto liofilizado
Extracto etanólico al 85% de hojas de <i>P. mixta</i>	379,545 ± 4,545
Extracto etanólico al 85% de hojas de <i>P. ligularis</i>	307,203 ± 4,237

Media ± desviación estándar de 3 determinaciones.

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

La concentración de flavonoides en el extracto liofilizado de hojas de *P. mixta* fue de 379,54 ± 4,54 FTEQ/g; según estudios anteriores el extracto hidroalcohólico al 70% se cuantificó 26,05 mg de Quercetina/ g de materia vegetal de hojas desecadas de *P. mixta*. El extracto liofilizado de *P. ligularis* presentó 307,203±4,237 FTEQ/g. En anteriores estudios la cantidad fue de 54,33 mg de Quercetina/ g de materia vegetal de hojas desecadas; esta diferencia se podría explicar a la liofilización de los extractos. (Paredes, 2016, p. 41) (Pinduisaca, 2016, p. 46)

3.4. Evaluación de la actividad ansiolítica

3.4.1. Laberinto en cruz elevado (EPM)

Tabla 5-3 Número de entradas a brazos

Control	Blanco	<i>Passiflora ligularis</i> (PL)					<i>Passiflora mixta</i> (PM)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
2,80	11,6	9,80	3,00	12,00	6,80	17,80	13,8	14,6	11,8	10,4	7,2
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
4,02	7,78	4,82	1,41	6,56	4,82	8,84	6,61	5,59	6,31	6,47	3,56

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. $p < 0.05$

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 6-3 Porcentaje de tiempo en brazos abiertos, %

Control	Blanco	<i>Passiflora ligularis</i> (PL)					<i>Passiflora mixta</i> (PM)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
97,520	4,3320± 3,92818	18,2	5,67	24,60	21,80	30,80	31,0	39,48	36,56	31,72	43,04
0 ±		6±	±	±	±	±	0±13	±	±	±	±
4,8012		8,91	3,22	7,92	15,04	9,54	,30	3,82	16,18	3,76	21,09

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. $p < 0.05$

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 7-3 Test Anova para número de entrada a brazos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1125,733	11	102,339	2,957	0,005
Dentro de grupos	1661,200	48	34,608		
Total	2786,933	59			

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 8-3 Test Anova de porcentaje de tiempo en brazos abiertos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	31501,651	11	2863,786	24,193	0,000
Dentro de grupos	5681,966	48	118,374		
Total	37183,616	59			

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 9-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de número de entradas.

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	5	2,8000	
<i>P. ligularis</i> D2	5	3,0000	
<i>P. ligularis</i> D4	5	6,8000	6,8000
<i>P. mixta</i> D5	5	7,2000	7,2000
<i>P. ligularis</i> D1	5	9,8000	9,8000
<i>P. mixta</i> D4	5	10,4000	10,4000
BLANCO	5	11,6000	11,6000
<i>P. mixta</i> D3	5	11,8000	11,8000
<i>P. ligularis</i> D3	5	12,0000	12,0000
<i>P. mixta</i> D1	5	13,8000	13,8000
<i>P. mixta</i> D2	5	14,6000	14,6000
<i>P. ligularis</i> D5	5		17,8000
Sig.		0,095	0,154

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 10-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
BLANCO	5	4,3320			
<i>P. ligularis</i> D2	5	5,6667			
<i>P. ligularis</i> D1	5	18,2667	18,2667		
<i>P. ligularis</i> D4	5	21,8000	21,8000	21,8000	
<i>P. ligularis</i> D3	5	24,6000	24,6000	24,6000	
<i>P. ligularis</i> D5	5		30,8000	30,8000	
<i>P. mixta</i> D1	5		31,0000	31,0000	
<i>P. mixta</i> D4	5		31,7200	31,7200	
<i>P. mixta</i> D3	5		36,5600	36,5600	
<i>P. mixta</i> D2	5		39,4800	39,4800	
					Continuará

Continúa					
<i>P. mixta</i> D5	5			43,0400	
CONTROL	5				97,5200
Sig.		0,158	0,117	0,116	1,000

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

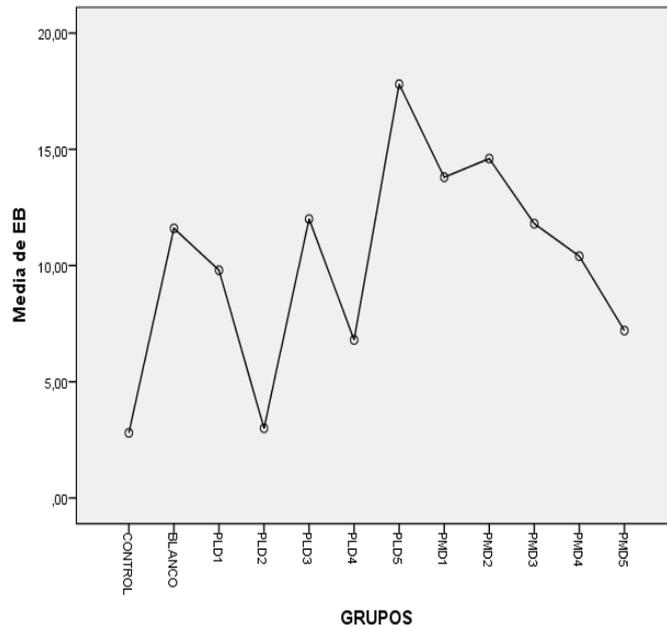


Gráfico 1-3 Medias de número de entrada a brazos

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

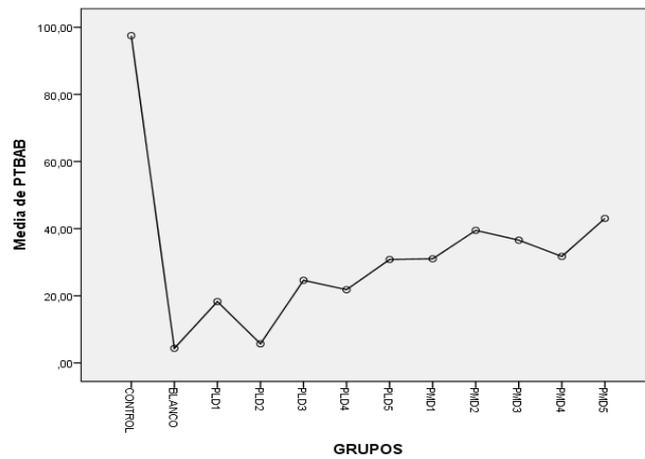


Gráfico 2-3 Medias de porcentaje de tiempo en brazos abiertos

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 11-3 Test t de Student de número de entradas a brazos para comparación de especies de Passiflora

EBA	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-0,888	48	0,379

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 12-3: Test t de Student de porcentaje de tiempo en brazos abiertos para comparación de especies de Passiflora

PTBA	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-4,475	48	0,000

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

El test Anova (Tabla 7-3, Tabla 8-3) muestra diferencia significativa en las dos variables medidas. En el número de entradas a brazos el análisis post-hoc HSD Tukey (Tabla 9-3); se forman 2 grupos homogéneos. Las dosis PLD2, PLD4, PMD5, PLD1 forman grupo homogéneo con el grupo control, indicando depresión en la actividad motora.

Los tratamientos restantes se encuentran en el grupo homogéneo con el blanco con medias que la superan, estas son: PMD1, PMD2, PLD5, lo cual indica que en este test son dosis ansiogénicas elevando la movilidad del animal. El test t-Student Tabla (11-3) demuestra que no hay diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. ligularis* y *P. mixta*.

El porcentaje de tiempo en brazos abiertos análisis post-hoc HSD Tukey (Tabla 10-3); se forman 4 grupos homogéneos y se puede observar que ninguna dosis forma grupo homogéneo con el control. Sin embargo, PLD4, PLD3, PLD5, PMD1, PMD4, PMD3, PMD2, PMD5 forman parte del grupo más cercano al control lo cual indica actividad insolítica considerable.

El test t-Student (Tabla 12-3) demuestra diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. ligularis* *P. mixta*; y tomando en cuenta la cercanía al grupo control en el Gráfico 1-3 y el análisis pos-hoc se determina que en este test las dosis de extracto liofilizado de *P. mixta* tienen mayor efecto ansiolítico que el extracto liofilizado de *P. ligularis*. Se observa que la actividad

ansiolítica es directamente proporcional a la concentración de cada uno de los extractos liofilizados.

En cuanto al extracto liofilizado de *P. ligularis*, el número de entradas a brazos PLD2, PLD4 forman grupo homogéneo con el control por lo cual se determina que la actividad locomotora se ve afectada en estas dosis. Existe una diferencia evidente en el grupo control con el tratamiento PLD5 incluso está teniendo un mayor número de entradas a brazos que el blanco.

El porcentaje de tiempo en brazos abiertos PLD5 es la más próxima al control formando un grupo homogéneo con PLD3, PLD4. Se observa en el Gráfico 1-3, que la media de PLD2, PLD1 forma grupo homogéneo con el grupo blanco por lo que no se le atribuye ningún efecto ansiolítico.

En cuanto al extracto liofilizado de *P. mixta*, la PMD5 forma grupo homogéneo con el grupo control y los tratamientos PMD1, PMD2 presentan números de entradas mayores a los del grupo blanco. El extracto liofilizado de *P. mixta*, los cinco tratamientos forman grupo homogéneo con el grupo más cercano al control. El Gráfico 1-3 se observa la diferencia del blanco y las dosis administradas.

Los estudios realizados de crisina extraída de *P. incarnata* nos dan una media de 39.04 ± 2.6 en porcentaje de tiempo abrazos abiertos demostrando que aunque tenga diferencia significativa con el grupo control este porcentaje muestra actividad ansiolítica. El valor del porcentaje del tiempo en brazos abiertos de PMD2, PMD3 son similares con la crisina extraída a partir de *P. incarnata*. (Brown et al, 2007, pp.333-337)

3.4.2. Cuarto claro/oscuro

Tabla 13-3 Tiempo de permanencia en el cuarto claro, minutos

Control	Blanco	<i>Passiflora ligularis</i> (PL)					<i>Passiflora mixta</i> (PM)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
4,82	0,9307	2,36±	1,74	2,23	3,31	1,61	0,58	0,57	1,29	1,39±	0,58
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,35	0,59592	1,82	1,86	1,66	1,57	1,16	0,51	0,44	0,66	0,24	0,51

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. $p < 0,05$

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 14-3 Test Anova para el tiempo en cuarto claro

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	80,138	11	7,285	5,703	0,000
Dentro de grupos	61,323	48	1,278		
Total	141,461	59			

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 15-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en cuarto claro

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
PMD2	5	,5667		
PMD1	5	,5833		
BLANCO	5	,9300	,9300	
PMD3	5	1,2867	1,2867	
PMD4	5	1,3933	1,3933	
PLD5	5	1,6160	1,6160	
PLD2	5	1,7440	1,7440	
PMD5	5	1,8867	1,8867	
PLD3	5	2,2340	2,2340	
PLD1	5	2,3600	2,3600	
PLD4	5		3,3100	3,3100
CONTROL	5			4,8200
Sig.		0,359	0,065	0,617

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

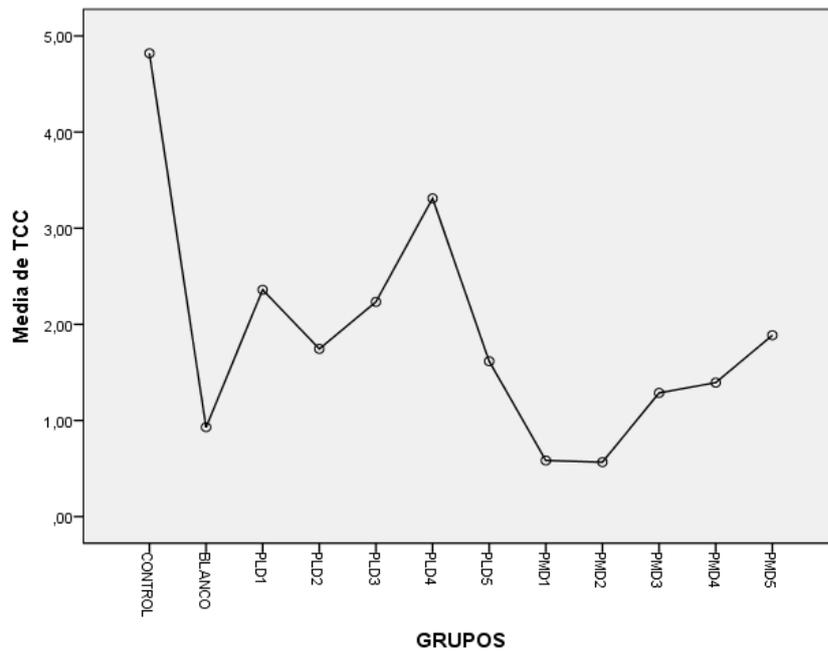


Gráfico 3-3 Medias de tiempo en cuarto claro

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 16-3 Test t de Student de tiempo en cuarto claro para comparación de especies de Passiflora

TCC	T	G1	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-4,475	48	0,003

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Según la Tabla 14-3 existe diferencia significativa. El estadístico pos-hoc Tukey (Tabla 15-3) forma tres grupos homogéneos. Solamente PLD4 forma grupo homogéneo con el grupo control, seguida de las dosis PLD1, PLD3, PMD5, PLD2, PLD5, PMD4, PMD3. No se determina ningún tipo de actividad ansiolítica en PMD2, PMD1. Se observa en el Gráfico 3-3, que la media de PMND5 Y PMN D4 tienen mayor tiempo en el cuarto claro. El test t-Student (Tabla 16-3) demuestra diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. ligularis* y *P. mixta*

El extracto liofilizado de *P. ligularis* exhibe actividad ansiolítica en sus cinco tratamientos, en mayor proporción en PLD4, PLD1, PLD3, estos datos son concordantes con el test de laberinto elevado expresado como porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

El extracto liofilizado de *P. mixta*, los tratamientos PMND5, PMND4, PMND3 demuestran actividad ansiolítica al igual que en el test de laberinto elevado expresado como porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

3.4.3. Campo abierto

Tabla 17-3 Número de cuadros recorridos en campo abierto

Control	Blanco	<i>Passiflora ligularis</i> (PL)					<i>Passiflora mixta</i> (PM)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
14,20	85,80	63,6	34,80	56,40	59,60	78,80	130	75,40	84,00	73,2	70,40
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	0±	±
12,68	49,98	29,1	27,74	27,96	23,90	8,35	19,5	12,60	18,12	21,5	55,23
										5	

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. $p < 0,05$

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 18-3 Tiempo en centro de campo abierto, minutos

Control	Blanco	<i>Passiflora ligularis</i> (PL)					<i>Passiflora mixta</i> (PM)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
0,00	0,24	,038	0,010	0,028	0,066	0,102	0,14	0,103	0,213	0,036	0,14
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	7
0,00	0,23	0,05	0,014	0,031	0,076	0,117	0,10	0,16	0,222	0,039	0,19
											2

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. $p < 0,05$

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 19-3 Test de Anova para cuadros recorridos en campo abierto

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	44167,650	11	4015,241	4,781	0,000
Dentro de grupos	40316,000	48	839,917		
Total	84483,650	59			

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 20-3 Test Anova de tiempo en centro de campo abierto

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,335	11	0,030	1,934	0,048
Dentro de grupos	0,757	48	0,016		
Total	1,092	59			

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 21-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de cuadros recorridos

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONTROL	5	14,2000		
PLD2	5	34,8000	34,8000	
PLD3	5	56,4000	56,4000	
PLD4	5	59,6000	59,6000	
PLD1	5	63,6000	63,6000	
PMD5	5	70,4000	70,4000	70,4000
PMD4	5	73,2000	73,2000	73,2000
PMD2	5	75,4000	75,4000	75,4000
PLD5	5		78,8000	78,8000
PMD3	5		84,0000	84,0000
BLANCO	5		85,8000	85,8000
PMD1	5			130,0000
Sig.		0,064	0,220	0,079

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 22-3 Test post-hoc Duncan de grupos homogéneos de tiempo en el centro

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONTROL	5	0,0000		
PLD2	5	0,0100		
PLD3	5	0,0280	0,0280	
PMD4	5	0,0367	0,0367	
PLD1	5	0,0380	0,0380	
PLD4	5	0,0660	0,0660	0,0660
PLD5	5	0,1020	0,1020	0,1020
PMD2	5	0,1033	0,1033	0,1033
PMD1	5	0,1400	0,1400	0,1400
PMD5	5	0,1467	0,1467	0,1467
PMD3	5		0,2133	0,2133
BLANCO	5			0,2367
Sig.		0,126	0,051	0,067

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

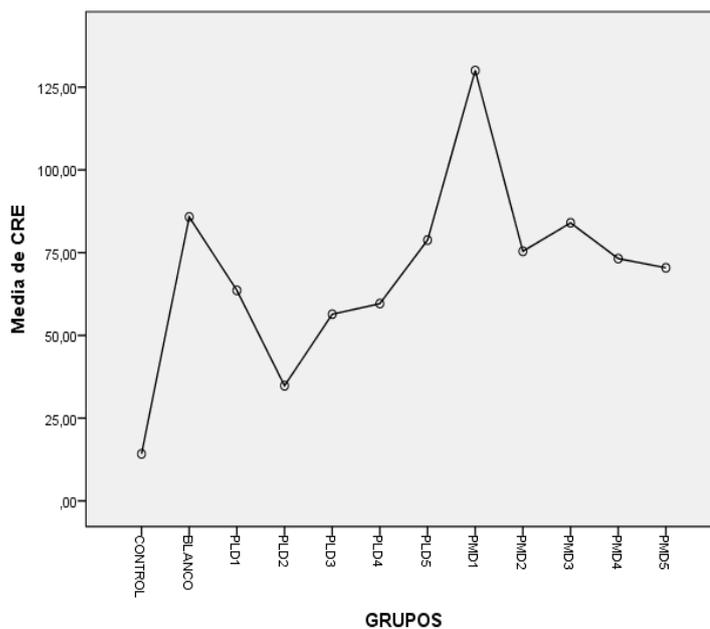


Gráfico 4-3 Medias de cuadros recorridos en campo abierto

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

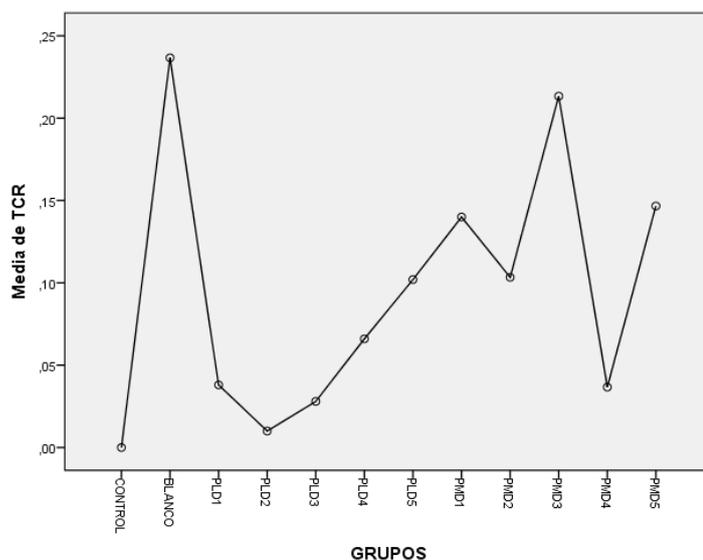


Gráfico 5-3 Medias de tiempo en el centro

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 23-3 Test t de Student de cuadros recorridos para comparación de especies.

CRE	t	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-3,159	48	0,003

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 24-3 Test t de Student de tiempo en centro comparación de especies.

TCR	t	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-2,392	48	0,021

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

El test Anova (Tabla 20-3, Tabla 21-3) muestra que hay una diferencia significativa en las dosis administradas de cada una de las variables medidas. En lo referente a cuadros recorridos (Tabla 22-3); se forma 3 grupos homogéneos. Las dosis más destacables son PLD2, PLD3, PLD4, PLD1, PMD5, PMD4, PMD2 ya que forman parte del grupo homogéneo con el control.

El tratamiento PMD1 muestra mayor número de cuadros recorridos que el grupo blanco. El test t- Student (Tabla 23-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de Pasiflora.

El extracto liofilizado de *P. ligularis* muestra mayor depresión de la actividad locomotora en cuadros recorridos basado en el test Tukey (Tabla 21-3), con mayor número de dosis formando grupo homogéneo con el grupo control; esto tiene concordancia con el número de entradas a brazos del laberinto elevado.

En el número de cuadros recorridos los tratamientos del extracto de *P. ligularis*, según el test pos hoc Tukey (Tabla 21-3), las dosis PLD2, PLD3, PLD4, PLD1 forman grupo homogéneo con el grupo control son; las cuales se determinan como tratamientos que actúan sobre la actividad locomotora. El tratamiento PLD5 tiene mayor número de cuadros recorridos confirmándose que no deprime la locomoción al igual que en la variable número de entradas del test EPM. La PLD2 y PLD4 demuestran actividad destacable sobre la actividad locomotora en cuadros recorridos y número de entradas en brazos.

En número de cuadros recorridos los tratamientos del extracto de *P. mixta* que forman grupo homogéneo con el control son PMD5, PMD4. La elevación de actividad motora de PMD1, PMD2 y PMD3 en cuadros recorridos es congruente con el número de entrada a brazos del laberinto elevado.

El tiempo en el centro en el análisis pos-hoc Duncan (Tabla 22-3); forma 3 grupos homogéneos. El grupo control forma grupo homogéneo con PLD2, PLD3, PMD4, PLD1, PLD4, PLD5, PMD2, PMD1, PMD5, las cuales demuestran efectos ansiolíticos. El test t- Student (Tabla 25-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de Pasiflora. Los cinco tratamientos de extracto liofilizado de *P. ligularis* muestran efecto ansiolítico y en mayor proporción PLD2, PLD3, PLD1. El tratamiento PLD3 exhibe actividad ansiolítica en tiempo en el centro, tiempo en cuarto claro y porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

Los tratamientos de extracto liofilizado de *P. mixta* que muestran efecto ansiolítico son PMD4, PMD2. El tratamiento PMD4 exhibe actividad ansiolítica en tiempo en el centro, tiempo en cuarto claro y porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

El estudio de extracto etanólico de *P.actinia* muestra que a 100 mg/kg el número de cuadros recorridos es de 62.7 ± 5.0 , a 300 mg/kg recorre 53.8 ± 7.4 cuadros y a 600 mg/kg 39.1 ± 4.9 . Estudio en el cual se determinó que el extracto liofilizado a 600 mg/ kg tiene efecto sedante. La PLD2 tiene una media de 34,8 en número de cuadros recorrido similar a 600 mg /kg ip. (Dos Santos et al, 2005 pp. 565-573)

3.4.4. Test chimenea

Tabla 25-3 Tiempo que tarda en salir, minutos

Control	Blanco	<i>Passiflora ligularis</i> (PL)					<i>Passiflora mixta</i> (PM)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1,00± 00	0,24± 0,13	0,82 ± 0,39	0,73 ± 0,37	0,52 ± 18,12	0,54 ± 0,44	0,51 ± 0,38	0,22 ± 0,09	0,38 ± 0,35	0,29 ± 0,27	0,52 ± 0,44	0,50 ± 0,25

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. P >0,05

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 26-3 Test Anova de tiempo que tarda en salir

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3,022	11	0,275	2,720	0,008
Dentro de grupos	4,849	48	0,101		
Total	7,871	59			

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 26-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo que tarda en salir

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
PMD1	5	0,2233	
BLANCO	5	0,2407	
PMD3	5	0,2933	
PMD2	5	0,3767	0,3767
PMD5	5	0,5073	0,5073
PLD5	5	0,5100	0,5100
			Continuará

Continúa				
PMD4		5	0,5167	0,5167
PLD3		5	0,5180	0,5180
PLD4		5	0,5360	0,5360
PLD2		5	0,7280	0,7280
PLD1		5	0,8240	0,8240
CONTROL		5		1,0000
Sig.			0,144	0,112

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

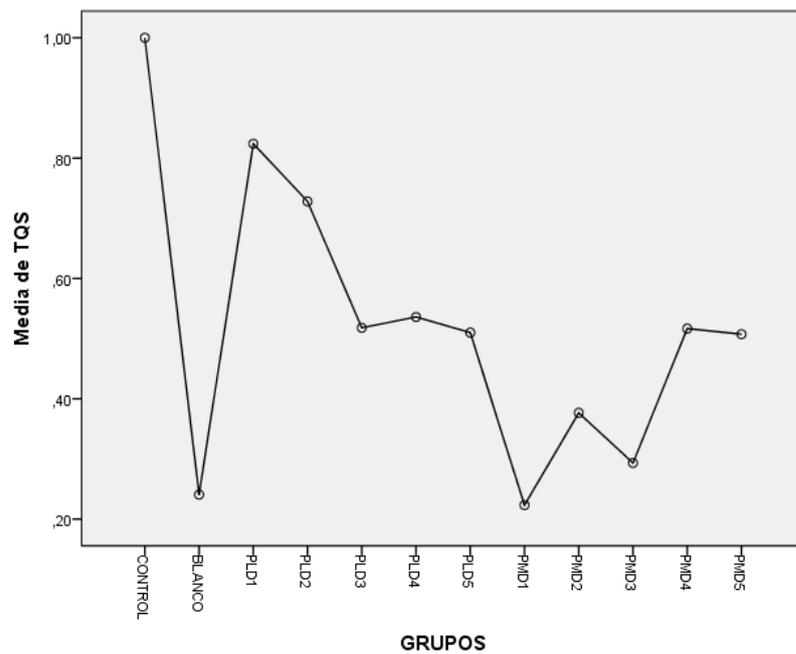


Gráfico 6-3 Medias de tiempo que tarda en salir

Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Tabla 28-3 Test t de Student de tiempo que tarda en salir para comparación de especies de Passiflora

TQS	T	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-2,498	48	0,016

Realizado por: GUAMÁN, Martha, 2016

Según el test Anova (Tabla 26-3) muestra que existe diferencia significativa en las variables medidas. El análisis pos-hoc Tukey (27-3); forma dos grupos homogéneos. El grupo control forma grupo homogéneo con PLD1, PLD2, PLD4, PLD3, PMD4, PLD5, PMD5, PMD2, PMD3. Sin embargo, se determina que PLD5, PMD4, PLD3, PLD4, PLD2, PLD1 al tener una media mayor de 0,5 minutos tienen efecto miorrelajante como lo indica Vogel, 2002; que señala que el animal en condiciones normales debe salir del tubo en máximo de 0,5 minutos.

El test t- Student (Tabla 28-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de *Pasiflora*. En el Gráfico 6-3, se observa que los tratamientos de extracto liofilizado de *P. ligularis* tienen mayor efecto miorrelajante que el extracto liofilizado de *P. mixta*.

Los cinco tratamientos de extracto liofilizado de *P. ligularis* muestran efectos miorrelajantes y en mayor intensidad PLD2, PLD3, PLD1.

Luego de la observación del comportamiento de los animales después de la administración de los tratamientos de extracto liofilizado de *P. ligularis* se realiza el siguiente análisis:

- Dosis 1 (25 mg de extracto liofilizado de *P. ligularis* / kg)

El comportamiento de los roedores en esta dosis en cuanto a número de entradas a brazos y cuadros recorridos no afecta la actividad locomotora respecto al blanco, con una elevada similitud al grupo control en el test de chimenea. La actividad ansiolítica no es la que se destaca, ya que en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos forma grupo homogéneo con el grupo blanco. Por lo que no constituye una dosis con claro efecto ansiolítico.

- Dosis 2 (50 mg de extracto liofilizado de *P. ligularis* / kg)

El comportamiento de los roedores con esta dosis se caracteriza por una marcada depresión de la actividad locomotora demostrado por el número de entrada a brazos, cuadros recorridos, tiempo que tarda en salir de la chimenea. En cuanto a su actividad ansiolítica forma grupo homogéneo con el grupo blanco en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en el

cuarto claro. En consecuencia es una dosis que afecta la actividad locomotora sin efecto ansiolítico.

- Dosis 3 (100 mg de extracto liofilizado de *P. ligularis* / kg)

El comportamiento de los roedores al administrar esta dosis, en cuanto a la actividad locomotora no se ve afectada en el número de entradas a brazos, cuadros recorridos; aunque muestra cierta tendencia al grupo control, está no se destaca. El test de chimenea determina que su media es similar al blanco. La actividad ansiolítica se muestra como una dosis cercana al grupo control en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, al igual que tiempo en el centro y tiempo en el cuarto claro. Obteniendo estos resultados se determina que es la dosis más conveniente para su uso como ansiolítico sin obtener efectos negativos en la actividad locomotora.

Según estudios Dhawan, Kumar, & Sharma, 2001 en estudios realizados de las partes aéreas *P. incarnata* demostraron efecto máximo ansiolítico a una dosis de 125 mg/kg vía oral en extracto metanólico. (Dhawan et al, 2001, p 131).

- Dosis 4 (200 mg de extracto liofilizado de *P. ligularis* / kg)

Los roedores muestran depresión en la actividad locomotora determinado en que forma grupo homogéneo con el control en número de entradas a brazos siendo su media segunda con mayor similitud al control y también forma parte del grupo homogéneo en el test de campo abierto con el número de cuadros recorridos. Su porcentaje de tiempo en brazos abiertos es el tercero con más actividad formando grupo homogéneo con el grupo más cercano al grupo control.

La actividad ansiolítica se destaca en el tiempo en cuarto claro, el tiempo en el centro forma grupo homogéneo con el grupo control, el porcentaje de tiempo en brazos abiertos forma el segundo grupo homogéneo alejándose del control. Se observa que la dosis tiene un mayor efecto que la dosis anterior en la actividad locomotora, con efecto ansiolítico representativo.

- Dosis 5 (300 mg de extracto liofilizado de *P. ligularis* / kg)

El comportamiento de los animales con la administración de esta dosis es singular ya que en entrada a brazos supera al grupo blanco, al igual que en cuadros recorridos. Su actividad ansiolítica se destaca en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, pero no en tiempo en el centro y tiempo en el cuarto claro.

El estudio de *P. incarnata* como sustancia ansiogénica en dosis superiores 300 mg/ kg ha demostrado que a dosis mayores de extracto se eleva el poder ansiogénico de los extractos, señalando que este efecto aún no está claro ya que existen investigaciones que no son reproducibles debido al origen de la materia vegetal, estado de los animales, biodisponibilidad. Este tratamiento se determina como una dosis ansiogénica debido a su elevación en las variables de actividad locomotora y su aumento en la actividad ansiolítica. (Elsas et al, 2010 págs. 940- 949)

El comportamiento de los ratones derivado de la administración de todas las dosis de extracto de *P. ligularis*, indica que existen efectos ansiolíticos y en la locomoción que son representativos. La dosis más destacable sobre la actividad locomotora es 50 mg/kg, induce sobre los animales de experimentación una depresión apreciable, en conjunción con una actividad ansiolítica que no es destacable con el fármaco patrón utilizado en el experimento (clonazepam 0,5 mg/kg).

La administración de una dosis de 100 mg/kg no modifica la actividad locomotora, teniendo un efecto ansiolítico notable. Las dosis administradas en mayor concentración alteran de manera significativa a la locomoción. Por lo cual se determina que, la administración de 100 mg/kg en ratones *Mus musculus* disminuye la ansiedad sin efectos sobre su actividad motora.

Luego de la observación del comportamiento de los animales después de la administración de los tratamientos de extracto liofilizado de *P. mixta* se realiza el siguiente análisis:

- Dosis 1 (25 mg de extracto liofilizado de *P. mixta* / kg)

El comportamiento de los ratones no presenta depresión de la actividad locomotora que se evidencia en el número de entrada a brazos y con el número de cuadros recorridos, incluso se observa que la actividad locomotora aumenta. Es una dosis que no se destaca en su actividad ansiolítica ya que en el tiempo en el cuarto claro forma grupo homogéneo con el grupo blanco.

En consecuencia es una dosis que no actúa de manera significativa en el comportamiento del animal.

- Dosis 2 (50 mg de extracto liofilizado de *P. mixta* / kg)

El comportamiento de los ratones con este tratamiento exhibe un aumento en el número de entradas a brazos. En la actividad ansiolítica no es destacada incluso en el tiempo del cuarto claro forma grupo homogéneo con el grupo blanco. Se observa que su perfil es similar cuando se administra 25 mg/ kg.

- Dosis 3 (100 mg de extracto liofilizado de *P. mixta* / kg)

La actividad locomotora de los animales con esta dosis no se ve afectada en ninguno de las variables medidas para este propósito. Sin embargo, no se destaca en la actividad ansiolítica; debido a que su media es la más similar con el grupo blanco.

- Dosis 4 (200 mg de extracto liofilizado de *P. mixta* / kg)

La actividad locomotora de los animales con esta dosis no se muestra afectada de manera destacable en número de entrada a brazos y cuadros recorridos. La media del test de chimenea es equivalente a un mínimo de efecto en la actividad miorrelajante aunque forme parte del grupo homogéneo con el grupo control. En cuanto a la actividad ansiolítica forma grupo homogéneo con el grupo más cercano al control, en porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en el centro, en el tiempo en el cuarto claro está en el grupo homogéneo del control. El comportamiento de los animales con esta dosis es similar cuando se administra 100 mg/kg, ya que las dos no deprimen la locomoción y tienen efecto ansiolítico. Sin embargo, esta dosis demuestra efecto ansiolítico mayor al anterior tratamiento.

- Dosis 5 (300 mg de extracto liofilizado de *P. mixta* / kg)

La actividad locomotora se ve afectada ya que forma grupo homogéneo con el grupo control, cuadros recorridos, tiempo que tarda en salir y en número de entrada a brazos. La actividad

ansiolítica se destaca en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en el cuarto claro. La dosis se caracteriza por deprimir la actividad locomotora con efecto ansiolítico considerable.

Estudios realizados en extractos acuosos de hojas y pericarpios de *P. edulis*, *P. flavicarpa* and *P. alata* originarias de Brasil mediante técnicas radiotelemétricas muestran efectos en la actividad locomotora induciendo a la sedación dependientes de la dosis. (Klein et al, 2013 pp. 706-713).

En un estudio realizado se demostró que la *P. actinia* originaria de Brasil actúan como agente sedante en extracto metanólico a 600 mg/kg y en extracto acuoso a 300 mg/kg ip. Lo que se relaciona con esta dosis que muestra un efecto sedante, debido a su depresión en la actividad locomotora y efecto ansiolítico. (Dos Santos et al, 2005 págs. 565-573)

El comportamiento de los ratones derivado de la administración de las cinco dosis de extracto etanólico de *P. mixta* indica que existen efectos ansiolíticos y en la locomoción, en por lo menos un test realizado. La administración de la dosis de 50 – 100 mg/kg presentan cambios ligeros en la actividad ansiolítica y actividad locomotora. La dosis de 300 mg/kg induce sobre los animales de experimentación una depresión significativa sobre la actividad locomotora, en conjunción con una actividad ansiolítica comparable al fármaco patrón utilizado en el experimento (clonazepam 0,5 mg/kg); por lo que se determina que es una dosis sedante. La administración de una dosis de 200 mg/kg no modifica la actividad locomotora, siendo destacable su actividad ansiolítica, por lo que esta dosis exhibe un efecto modulador de la ansiedad sin efectos sobre la actividad motora.

CONCLUSIONES

- Las hojas de *Passiflora mixta* tuvo el 5.27% de rendimiento y el de *Passiflora ligularis* el 4.96%. La cuantificación de flavonoides de *P. ligularis* fue de $307,203 \pm 4,237$ FTEQ /g de extracto liofilizado en *P. mixta* es de $379,54 \pm 4,54$ FTEQ/g de extracto liofilizado.
- Cualitativamente mediante la CCF en el extracto liofilizado de *Passiflora ligularis* se evidenció la posible presencia de schaftoside y en *Passiflora mixta* la posible presencia de Vitexina-2''-O-glucósico, Isovitexina, Vitexina.
- La dosis efectiva de la actividad ansiolítica del extracto liofilizado de *P. ligularis* es de 100 mg/ kg y en *P. mixta* es de 200 mg/ kg, determinada en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos y tiempo en el cuarto claro. En el test de chimenea en el que se determina actividad miorrelajante, no exhibe depresión en la actividad locomotora corroborando en cuadros recorridos y número de entradas a brazos. Por lo que se consideran dosis con efecto ansiolítico que no afectan la actividad motora de los animales de experimentación.
- Se observa diferencias significativas de la actividad ansiolítica entre los extractos liofilizados y dosis de *P. ligularis*, *P. mixta*, basada en el test t-Student.

RECOMENDACIONES

- Se podría continuar con estudios in-vitro con una extracción de la parte flavónica para determinar la interacción con los receptores GABA.
- Se recomienda un estudio toxicológico en ratas diseñado con perfiles hepáticos, fisiopatológicos, biométricos.

BIBLIOGRAFÍA

1. **AKHONDZADEH, S; et al.** “Passionflower in the treatment of generalized anxiety”. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. vol. 26, nº 1. 2001, Theran. pp. 363-367.
2. **ASHTON, Heather.** *Capítulo II. Las Benzodiazepinas: Como actuan en el organismo*. [En línea]. Inglaterra, 2010.
[Consulta: Agosto 30, 2016.]
<http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>.
3. **BARRETO, Mara.** *Farmacología de benzodiazepinas, hipnóticos y ansiolíticos no benzodiazepínicos, estimulantes, etanol y neuroactivadores cognitivos*. pp. 1-14 [pdf] 2003.
[Consulta: Agosto 30, 2016.]
<https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/04/farmacologia-delas-benzodiazepinas-ansioliticos-hipnoticos-no-benzodiazepinicos-psicoestimulantes-y-neuroactivadores-cognitivos.pdf>
4. **BOUKHRIS, Maher; et al.** “Chemical Composition and Biological Activities of Polar Extracts and Essential Oil of Rose-scented Geranium, *Pelargonium graveolens*” *Phytotherapy Research*. vol. 27 nº 8. 2013. pp. 1206-1213
5. **BROWN, Eric; et al.** “Evaluation of the anxiolytic effects of chrysin, a *Passiflora incarnata*, in the laboratory rat”. *AANA Journal* [en línea]. Estados Unidos de América, 75 (5), 2007. pp. 333-337.
[Consulta: Septiembre 1, 2016.]
http://www.aana.com/newsandjournal/Documents/passiflora1007_p333-337.pdf
6. **CARDOZO, Carmen, et al.** *El Animal como Sujeto Experimental Aspectos Técnicos y Éticos*. Centro Interdisciplinario de Estudios en Bioética (CEIB), Chile 2007. p 326
7. **CARRIÓN, Ana & GARCÍA Cándida** . “Preparación de Extractos Vegetales: Determinación de Eficiencia de Metódica”. (TESIS) (Pregrado). [En línea]. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Cuenca -Ecuador. 2010. pp. 39-41.
[Consulta: Octubre 2016, 22.]
<http://cdjbv.ucuenca.edu.ec/ebooks/tq1005.pdf>.

8. **CARVAJAL-DE PABÓN, Luz; et al.** “Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) y su composición Fitoquímica”. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. [En línea], 2014, Brasil 12 (2). pp. 185-196.
[Consulta: Septiembre 30, 2016.]
<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n2/v12n2a21.pdf>.
9. **CHÁVEZ-LEÓN, Enrique; et al.** “Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISR-5HT)”. *Salud Mental*. [En línea], 2008, México . 31 (4), pp. 307-319.
[Consulta: Agosto 30, 2016.]
<http://www.medigraphic.com/pdfs/salmen/sam-2008/sam084h.pdf>.
10. **DÍAZ, Gabriela; et al.** “Uso de Modelos Animales en el Estudio de Plantas *con Propiedades.. Medicinales*” *Sociedad de Farmacología de Chile*, 2012, Chile 5(2), p. 21. ISSN. 0718-882X.
[Consulta: Agosto 30, 2016]
http://www.sofarchi.cl/medios/revistas/fitofarmacologia/Diaz_Veliz_G_y_Mora_S_Revista_de_Farmacologia_de_Chile_2012_V_5_%20N2.pdf
11. **DOS SANTOS, Keli; et al.** “Sedative and Anxiolytic Effects of Methanolic Extract from the leaves of *Passiflora actinia*”. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*: vol. 49, nº 4 (2005), pp. 565-573.
12. **ECUADOR MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA.** *Prioridades de Investigación en Salud 2013-2017*. [pdf] 2016. pp. 3-24
[Consulta: Septiembre 30, 2016.]
[https://www.ucuenca.edu.ec/images/facu_medicina/Investigacion/prioridades_investigacion_salud2013-2017%20\(1\).pdf](https://www.ucuenca.edu.ec/images/facu_medicina/Investigacion/prioridades_investigacion_salud2013-2017%20(1).pdf).
13. **ELSAS, S; et al.** “*Passiflora incarnata* L. (Passionflower) extracts elicit GABA currents in hippocampal neurons in vitro, and show anxiogenic and anticonvulsant effects in vivo, varying with extraction method”. *Elsevier Phytomedicine*. vol. 17, nº 1 (2010), Portland. pp. 940-949.
14. **ESQUERRE-IBÁÑEZ, Boris; et al.** *El Género Passifloraceae en el Departamento de Lambayeque, Perú*. [pdf]. Perú: 2014. p. 123
[Consulta: Septiembre 30, 2016.]
http://www.biolveg.uma.es/abm/Volumenes/vol39/39_Esquerre-Ibanez_et_al.pdf.

15. **ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA. AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION.** *Apoyo para el tratamiento de la Ansiedad.* [pdf]., 2010. pp. 18-28 [Consulta: Agosto 29, 2016.]
<http://www.apa.org/centrodeapoyo/tratamiento.aspx>.
16. **ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD MENTAL.** *Trastornos de Ansiedad* [pdf] 2009. pp. 5-27
[Consulta: Agosto 29, 2016.]
http://ipsi.uprrp.edu/opp/pdf/materiales/ansiedad_esp.pdf.
17. **EXPÓSITO, María.** “Estudio farmacológico de una nueva serie de análogos tiofénicos de la tianeptina”. (TESIS) (Doctoral) [pdf]. Universidad de La Laguna, Tenerife, España, 1995. pp 127-132
18. **GARCÍA, Bobes; et al.** *Trastornos de Ansiedad.* [En línea] Madrid 2011 . pp 12 - 13 [Consulta:Agosto 30, 2016.]
http://www.unioviado.net/psiquiatria/publicaciones/documentos/1999/1999_Bobes_Trastorno.pdf.
19. **HEINZE MARTIN, Gerhard; & CAMACHO SEGURA, Pedro.** “*Guía clínica para el manejo de la ansiedad*” [pdf]. Mexico: Shoshana Berenzon, 2010. pp. 7-8
[Consulta: Agosto 30, 2016.]
http://www.inprf.gob.mx/opencms/export/sites/INPRFM/psicosociales/archivos/guias/manejo_ansiedad.pdf
20. **KHON , Robert; et al.** *La brecha terapéutica en la atención de salud mental.*. [En línea] 2010.
[Consulta: Agosto 30, 2016].
<http://www.who.int/bulletin/volumes/82/11/khon1104abstract/es/>.
21. **KHON, Roberth.** *La Brecha de Tratamiento en la Región de Las América.* [pdf] 2014. pp.7-8 [Consulta: Agosto 30, 2016].
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9408:la-brecha-de-tratamiento-en-la-region-de-las-americas&Itemid=40615&lang=fr.
22. **KLEIN, Nadine; et al.** “Assessment of Sedative Effects of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* and *Passiflora alata* Extracts in Mice, Measured by Telemetry”. *Phytotherapy Research* [en línea], 2013, Estados Unidos de América 28(5) pp. 706-713.

[Consulta: Septiembre 10, 2016.].DOI: 10.1002/ptr.5043.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.5043/abstract>

- 23. LANGEN, Barbara; et al.** “Characterization in Rats of the Anxiolytic Potential of ELB139 [1-(4-Chlorophenyl)-4-piperidin-1-yl-1,5-dihydro-imidazol-2-on], a New Agonist at the Benzodiazepine Binding Site of the GABAA Receptor”. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* [En línea], 2005, Alemania, 314 (1), pp. 718-724

[Consulta: Agosto 12, 2016.], ISBN: 84681/3041215.

https://www.researchgate.net/publication/7876839_Characterization_in_Rats_of_the_Anxiolytic_Potential_of_ELB139_1-4-Chlorophenyl-4-piperidin-1-yl-15-dihydro-imidazol-2-on_a_New_Agonist_at_the_Benzodiazepine_Binding_Site_of_the_GABAA_Receptor

- 24. LITVIN, Yoav; et al.** Unconditioned models of fear and anxiety. *Elsevier*, 17, 2.5 (2008). pp. 124-324

- 25. MADRID MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO.** *Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Trastornos de Ansiedad en Atención Primaria.* [En línea] 2010. pp. 22-33

[Consulta: Septiembre 30, 2016.]

<https://www.madrid.org/lainentralgo>.

- 26. MONTI, Jaime; et al .** GABA and Sleep Molecular, Functional and Clinical Aspects GABA and Sleep Molecular, Functional and Clinical Aspects. Estados Unidos de América: Springer , 2010. p. 42

- 27. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** *Tratamiento farmacológico de los trastornos mentales en la atención primaria de salud.* [pdf]. Estados Unidos de América: 2010. pp. 10-15.

[Consulta: Septiembre 24, 2016.]

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697_eng.pdf

- 28. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** *Centro de Prensa.* [pdf] Ginebra: 2016 [En línea]

[Consulta: Septiembre 28, 2016.]

<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/es/>.

- 29. PALLO, Mayra.** Evaluación del Efecto Ansiolítico del Extracto Hidroalcohólico De Flor De Granadilla (*Passiflora ligularis*) En Ratones (*Mus Musculus*)". (TESIS) (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . [pdf] Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2010. p. 91
- 30. PAMPLONA, Jorge.** Preparación de Plantas. *Salud por las Plantas Medicinales*. 1, 2006, Madrid : Safeliz, p.78 ISBN-10: 84- 7208-106-0.
- 31. PAREDES, Diana.** “Estudio Fitoquímico y Actividad Antioxidante In vitro de Hojas y Flores de Passiflora Mixta”. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 35-41
- 32. PINDUISACA, Nataly.** Estudio Fitoquímico y Evaluación de la Actividad Antioxidante In vitro de Hojas y Flores de Passiflora ligularis. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 24-54
- 33. POLANCO, Andrea & VARGAS-IRWIN, Crisina.** “Modelos Animales: Una Revisión desde Tres Pruebas Utilizadas en Ansiedad”. *Revista scielo.org*, vol. 18, nº2 2011, Colombia pp. 142-145
- 34. RAFAELLI, Andrea, et al. 1997.** “Journal Of Chromatography”. *Elsevier*. vol. 777 1997.Italia pp. 223-231.
- 35. REA, Elizabeth** “Evaluación del Efecto Ansiolítico del Extracto Hidroalcohólico de Flor de Badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*)”. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2014,pp. 108-109
- 36. REJÓN-ORANTES, Jose; et al.** “Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas”. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal redalyc.org. 2011 Colombia 52, pp. 80-83 [Consulta: Septiembre 30, 2016.] ISSN 0041-9095.
<http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/vnimedica/article/view/16039>
- 37. REYES-TICAS, Americo; et al.** *Trastornos de Ansiedad Guia Practica Para Diagnostico y Tratamiento*. [pdf] Madrid , 2016. pp. 9-32
[Consulta: Septiembre 29, 2016.]

<http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>

38. **RODGERS, R. & DALVI, A.** “*Anxiety, Defence and the Elevated Plus-maze*”. Elsevier Science Ltd. vol. 21, nº6. 2002, Madrid, pp. 806

39. **RUBIO, Gabriel.** *El Tratamiento De Los Trastornos De Ansiedad A Lo Largo De La Historia. Congreso Virtual de Psiquiatría.* [pdf]. España: 2010.
[Consulta: Septiembre 30, 2016.]
http://www.psiquiatria.com/congreso_old/mesas/mesa34/conferencias/34_ci_e.htm

40. **RUIZ, Ana; et al.** “Consumo de fitofármacos y apifármacos en el Hospital Docente Clínicoquirúrgico “Gral. Calixto García Íñiguez” *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 10, nº2 (2005), Cuba. p. 8

41. **SALAZAR, Michel; et al.** *Tratado de Psicofarmacología.* [en línea]. Buenos Aires-Argentina: Erguíluz I Uruchurtu, 2010, pp.128-130.
[Consulta: Agosto 02, 2016.]
https://books.google.com.ec/books/about/Tratado_de_Psicofarmacolog%C3%ADa.html?id=ugBvQChj4JAC

42. **SANABRIA, Walter.** *Utilización de Plantas Medicinales en la Práctica Psiquiátrica.* [En línea] España: 2012. pp 33-35
[Consulta: Agosto 02, 2016.]
<http://www.binasss.sa.cr/bibliotecas/bhp/cupula/v23n1-2/art3.pdf>.

43. **SÁNCHEZ, Luis.** “Estudio Etnobotánico, Macro y Micro-Morfológico de Plantas del Género Passiflora Utilizadas como Sedantes En La Provincia De Chimborazo”. (TESIS) (Pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 21-24

44. **SARUDIANSKY, Mercedes.** “Ansiedad, angustia y neurosis. Antecedentes conceptuales e históricos”. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal redalyc.org*, [en línea], 2013, (México DF- México) 21(1), pp. 1405-0943.
[Consulta: Agosto 02, 2016.]
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=133930525003>

- 45. TABORDA, Natalia.** “Fruto de la pasión, Maracuyá” [En línea] (**TESIS**) (pregrado) [pdf] Instituto Superior Particular Incorporado, Gestión Gastronómica, Santa Fe, Argentina 2013. [Consulta: Agosto 02, 2016.] p. 27
- <http://www.repotur.gov.ar/bitstream/handle/123456789/4461/EI%20maracuy%C3%A1%20Tesis.pdf?sequence=2>.
- 46. THOMPSON, Donald; et al.** “Imidazenil, a new anxiolytic and anticonvulsant drug, attenuates a benzodiazepine-induced cognition deficit in monkeys” *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. [En línea], 1995, Estados Unidos de América 273 (3), pp. 1037-1312.
- [Consulta: Agosto 10, 2016.] ISBN: 273:1312.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7791102>
- 47. TONINA, Adriana.** Descripción de un caso de Trastorno de Pánico con Agorafobia, desde el modelo de tratamiento de base cognitivo-conductual. [En línea] (**TESIS**) (pregrado) Universidad de Palermo. Buenos Aires, Argentina. 2010. pp. 48-50
- [Consulta: Agosto 01, 2016.]
- <http://dspace.palermo.edu/dspace/bitstream/handle/10226/793/Tonina%20Sen%C3%A9s,%20Adriana.pdf?sequence=1>.
- 48. VOGEL, Gerhard.** Drug Discovery and evaluation. Alemania. 2ª ed: Springer, 2002 pp. 396
- 49. WAGNER, Hülbebert & BLADE, Sabine.** *Plant Drug Analysis*. 2ª ed. Munich. Springer.1996. pp 330-331
- 50. WOHLMUTH, Hans; et al.** Pharmacognosy and Chemotypes of Passiflower (*Passiflora incarnata*). *Biological & Pharmaceutical*, vol. 33, nº6 (2010) (Australia) pp. 1015-1018

ANEXOS

Anexo A. Instalaciones Bioterio ESPOCH



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo B. Lecho de animales de experimentación



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo C. Hojas trituradas de *P. ligularis*



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo D. Hojas trituradas de *P. mixta*



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo E. Sonicación de extractos



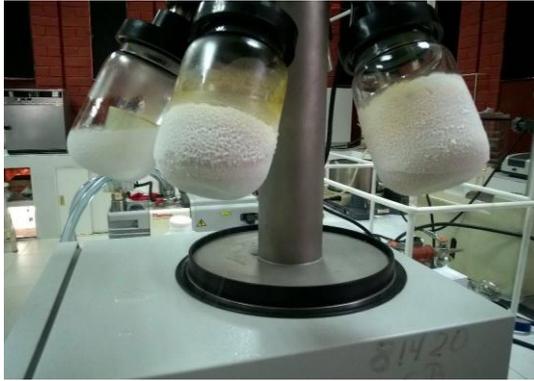
Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo F. Eliminación de solvente



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo G. Liofilización de extractos



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo H. Extractos liofilizados



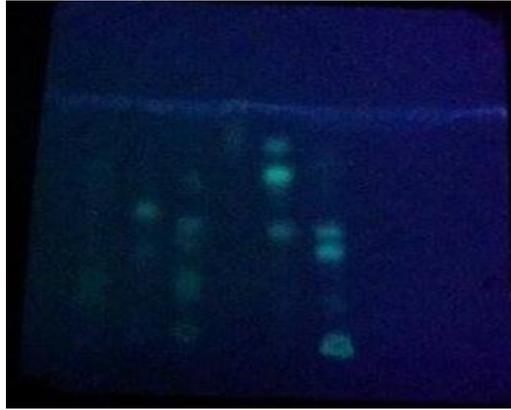
Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo I. Espectrofotómetro



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo J. Cromatografía de Passiflora, observado UV



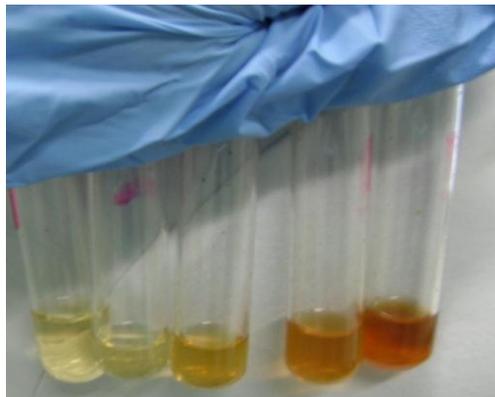
Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo K. Homogenización del extracto liofilizado y propilenglicol



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo L. Extracto liofilizado de *P.mixta* reconstituido en propilenglicol 15%



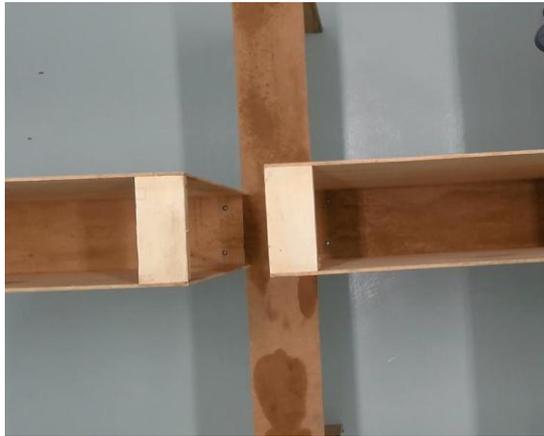
Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo M. Administración del extracto liofilizado a ratones



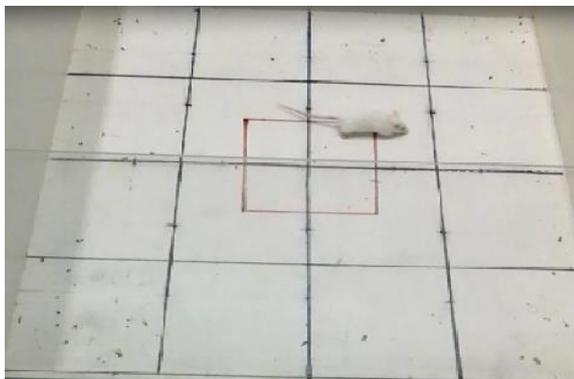
Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo N. Laberinto Elevado



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo O. Campo Abierto



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016

Anexo P. Chimenea



Fuente: GUAMÁN, Martha, 2016