



Artículo Original | Original Article

Efecto de *Petiveria alliacea* y drogas colinérgicas sobre la habituación

[Effects of *Petiveria alliacea* and cholinergic drugs on the habituation cognitive behavior]

**Peter Caicedo-Pinto, Daniela F. Lucena-Gallardo, María A. Correa-Rivera,
Ka Yang-Yeung, Orianna Terán y Rafael Bonfante-Cabarcas**

*Unidad de Bioquímica, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado,
Barquisimeto, Lara, Venezuela*

Contactos / Contacts: Peter CAICEDO-PINTO - E-mail address: pcaicedo88@gmail.com

Abstract: *Petiveria alliacea* (PA) have anxiolytic, antidepressant and cognitive effects. In the present paper the effect of PA water infusion and cholinergic drugs on cognitive behavior were studied. For that, 40 male NMRI mice were divided in 4 groups: Control (n=10), Drug Control (n=10), PA (n=10) and PA plus Drug (n=10). PA 1% was administered orally (7.59±1.39 ml/day); while scopolamine (2 mg/Kg), galantamine (1 mg/Kg) and nicotine (0.1 mg/Kg) were administered intraperitoneally. Behavioral tests included: anxiety maze (AM), open field (OF) and marble burying (MB). Habituation cognitive behavior was evaluated in 4 sessions, one week each session. PA had anxiolytic and antidepressant effect in AM, combined with nicotine potentiated an anxiogenic effect in AM, galantamine favored habituation in OF. Scopolamine potentiated the habituation in LA and decreased the obsessive-compulsive behavior in OF. In conclusion; PA had an anxiolytic effect and favored deshabituation, combined with nicotine induced an anxiogenic effect, galantamine favored habituation and scopolamine decreased obsessive-compulsive behavior and favored motor habituation indicated a possible anxiolytic effect.

Keywords: *Petiveria alliacea*; Habituation; Deshabituation; Cholinergic drugs; Scopolamine; Galantamine; Nicotine.

Resumen: La *Petiveria alliacea* (PA) está relacionada con efectos ansiolíticos, antidepresivos y cognitivos. El presente trabajo estudió el efecto de la infusión de PA y drogas colinérgicas sobre la habituación. 40 ratones NMRI machos fueron divididos en 4 grupos: Control (n=10), Control Drogas (n=10), PA (n=10) y PA plus Drogas (n=10). La PA (1%) fue administrada vía oral (7.59±1.39 ml/día); escopolamina (2 mg/Kg), galantamina (1 mg/Kg) y nicotina (0.1 mg/Kg) fueron administrados vía intraperitoneal. Los ensayos conductuales incluyeron: laberinto de ansiedad (LA), campo abierto (CA) y enterramiento aversivo (EA). La habituación fue evaluada en 4 sesiones con duración de una semana cada una. PA mostró un efecto ansiolítico en el LA, combinada con nicotina potenció un efecto ansiogénico en el LA. Galantamina favoreció la habituación en CA, y escopolamina potenció el fenómeno de habituación en LA y disminuyó la conducta obsesivo-compulsiva en CA. En conclusión, la PA mostró un efecto ansiolítico y antidepresivo que potencia la deshabitación, combinada con nicotina indujo un efecto ansiogénico, galantamina favoreció la habituación y escopolamina disminuyó la conducta obsesivo-compulsiva y favoreció la habituación motora indicando un posible efecto ansiolítico.

Palabras clave: *Petiveria alliacea*; Habituación; Deshabitación; Drogas colinérgicas; Escopolamina; Galantamina; Nicotina.

Recibido | Received: 25 de enero de 2019

Aceptado | Accepted: 4 de junio de 2019

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 6 de julio de 2019

Publicado en línea | Published online: 30 de noviembre de 2019

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: P Caicedo-Pinto, DF Lucena-Gallardo, MA Correa-Rivera, K Yang-Yeung, O Terán, R Bonfante-Cabarcas. 2019 Efecto de *Petiveria alliacea* y drogas colinérgicas sobre la habituación. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 18 (6): 595 – 606.

<https://doi.org/10.35588/blacpma.19.18.6.42>

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son una fuente de biomoléculas con valores terapéuticos para el tratamiento de trastornos psicológicos y del Sistema Nervioso Central (SNC). Diversas investigaciones con especies como *Searsia pyroides* y *Mentha aquatica*, han demostrado sus propiedades ansiolíticas a través de flavonoides como apigenina, amentoflavona, y naringenina, que presentaron afinidad por el receptor de benzodiacepina GABA_(A) (ácido gamma-aminobutírico). De igual forma, *Sceletium tortuosum* posee alcaloides como la mesembrina que actuaron como un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS) en tres modelos in vivo, mostrando su actividad antidepressiva y ansiolítica; mientras que, *Boophone disticha* y *Crinum* L, han demostrado un efecto inhibitorio sobre la enzima acetilcolinesterasa aumentando la concentración en sujetos con demencia senil (Stafford *et al.*, 2008). Estudios realizados con infusiones de *Ginkgo biloba*, *Galphimia glauca*, *Matricaria recutita*, *Passiflora incarnata*, *Valeriana officinalis* y *Piper methysticum*, han mostrado efectos beneficiosos en individuos con trastornos de ansiedad generalizada, agorafobia y fobia social, disminuyendo significativamente su sintomatología al ser comparados con el consumo de diazepam. (Faustino *et al.*, 2010; Fajemiroye *et al.*, 2016).

Otra de las plantas medicinales usadas para el tratamiento de los trastornos mentales es la *Petiveria alliacea* (PA), sus efectos sobre la conducta han sido previamente descritos; Sariego *et al.* 2015, demostraron la presencia de flavonoides en hojas de la planta, los cuales actúan sobre los receptores GABA_(A) indicando su efecto ansiolítico (Estrada-Reyes *et al.*, 2012); finalmente un modelo in vivo del extracto acuoso de la planta mostró un aumento de la actividad locomotora, mejora en la memoria espacial a corto y largo plazo, efectos ansiolíticos, antidepressivos, antinociceptivos, anti-convulsivos, potenciadores cognitivos y aumentó y mejoró del proceso de aprendizaje (de Andrade *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2015; Luz *et al.*, 2016).

Por otra parte, existen drogas colinérgicas como la galantamina, nicotina y escopolamina que se utilizan clásicamente para el tratamiento de estos trastornos. Galantamina es un alcaloide cuyo mecanismo de acción se basa en su capacidad de inhibir la enzima acetilcolinesterasa y de ser un efector alostérico positivo de los receptores

colinérgico nicotínicos. (Woodruff-Pak *et al.*, 2002). Ha sido demostrado que galantamina incrementa la liberación de acetilcolina, dopamina y glutamato y potencia alostéricamente la actividad de los receptores glutamatérgicos tipo NMDA (N-metil-D-aspartato), los cuales han sido asociados con la facilitación del aprendizaje y la memoria, siendo utilizada para la enfermedad de Alzheimer y demencia senil (Woodruff-Pak *et al.*, 2002; Narahashi *et al.*, 2004; Ago *et al.*, 2011). Asimismo, nicotina es una droga de abuso que actúa sobre receptores nicotínicos neuronales favoreciendo los fenómenos de memoria y aprendizaje. En animales se ha demostrado que la administración sistémica de nicotina incrementa la atención, el aprendizaje y la memoria (Sahakian *et al.*, 1989; Nagahara & Handa, 1999; Scerri *et al.*, 2006). Estudios realizados en seres humanos evidencian que la nicotina puede ser utilizada como un posible fármaco terapéutico que potencia la cognición (Abd Rashid *et al.*, 2017). Finalmente, escopolamina tiene la propiedad de incrementar la liberación de acetilcolina y otros neurotransmisores en neuronas presinápticas conteniendo receptores colinérgicos muscarínicos M2 (Douglas *et al.*, 2001); por su parte, Calabresi *et al.* (1998) demostraron que methoctramina, un antagonista selectivo de los receptores muscarínicos M2, facilitó la aparición de la potenciación a largo termino en sinapsis corticoestriales, aumentando la liberación de acetilcolina y glutamato, neurotransmisores ampliamente considerados como la base molecular del aprendizaje y la memoria (Marchi & Raiteri, 1989; Morgado, 2005).

En tal sentido, una de las variables relacionadas con el aprendizaje es la habituación, la cual se define como una forma básica del aprendizaje; es un proceso que disminuye gradualmente la respuesta conductual ante un mismo estímulo que se presenta de forma repetitiva, filtrando información sensorial y ayudando a los organismos a responder selectivamente a estímulos biológicamente significativos, ignorando los menos relevantes, lo que no implica adaptación sensorial, fatiga sensorial o fatiga motora, diferenciándose de estas por el fenómeno de deshabituación, el cual se define como un proceso donde se produce un aumento o mantenimiento de la respuesta basal, previamente disminuida, ante la alternancia de diferentes estímulos. (Rankin *et al.*, 2008; Typlt *et al.*, 2013; Cevik, 2014; Pilz *et al.*, 2014; Schmid *et al.*, 2015; Wolman *et al.*, 2015).

La habituación ha sido relacionada con el Sistema Colinérgico Muscarínico (SCM), ya que la neurotransmisión colinérgica desempeña un papel crítico en los procesos de la actividad conductual, excitación, atención, aprendizaje y memoria (Thiel *et al.*, 1998; Pepeu & Giovannini, 2004; Maurer & Williams, 2017). Estudios previos corroboran esta participación, al observar que los niveles extracelulares de acetilcolina hipocampal, no solo están elevados en relación con la novedad y la activación del comportamiento, sino también durante el fenómeno de habituación (Thiel *et al.*, 1998). Ha sido demostrado que la activación conductual durante la etapa de habituación de una tarea es suficiente para alterar el SCM (mAChR) en el SNC (Van der Zee *et al.*, 2004). Así mismo, se ha comprobado que la modulación colinérgica también puede ocurrir a nivel de la corteza olfatoria (CO), donde la ausencia de los receptores muscarínicos M1 y M3 podrían interrumpir el procesamiento olfativo produciendo un fenómeno de habituación entre representaciones olfativas, al reducir el efecto inhibitorio de los receptores muscarínicos ACh, potenciando las sinapsis aferentes (Chan *et al.*, 2017).

Se han postulado dos mecanismos de habituación en relación al sistema colinérgico: motivada y no motivada; siendo la habituación motivada dependiente de la actividad colinérgica. Estudios previos en ratones evidencian que el sistema neuronal colinérgico central juega un papel importante en el mecanismo neuronal de la habituación (Morita *et al.*, 1990; Blake *et al.*, 2011; Typlt *et al.*, 2013).

Para nuestro conocimiento no existen investigaciones anteriores que relacionen la administración del uso de las infusiones de la PA como un modulador del efecto de drogas colinérgicas (escopolamina, galantamina y nicotina) sobre la habituación a conductas motoras instintivas (espontáneas) y compulsivas, por lo que en el presente trabajo estudiamos el efecto de la PA sobre la conducta motora expresada en el LA y en CA, y la conducta compulsiva expresada en el EA, en ratones de la cepa NMRI (Naval Medical Research Institute) machos, bajo la administración de dichas drogas colinérgicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

Constituida por 40 ratones NMRI adultos machos, con un peso promedio de 50.14 ± 1.23 g, que fueron

colocados en jaulas individuales de acero inoxidable de 17 x 29 x 13,5 cm, con periodos diurnos-nocturnos de 12 horas cada uno, a una temperatura media de 25°C y alimentados con comida para animales (ProtiCan, Proagro, C.A.), a libre demanda. Los ratones fueron divididos en 2 grupos: Control (n=20), y PA (n=20), los cuales a su vez fueron divididos en 2 subgrupos a los fines de los experimentos farmacológicos: control solución salina (n=10) y drogas experimentales (n=10), quienes recibieron solución salina o fármacos colinérgicos, respectivamente.

Fármacos y sustancias suministradas. Agua

Los animales del grupo control recibieron 50 ml de agua filtrada en teteros de plástico de 100 ml con un consumo promedio de 7.62 ± 1.15 por ratón. El agua fue cambiada cada 3 días.

Petiveria alliacea

Las hojas de PA fueron adquiridas en el mercado local, en una tienda especializada en plantas medicinales, secadas a 60°C por un periodo de 48 horas, pulverizadas y pesadas. La infusión se preparó a una concentración del 1% p/v; las hojas secadas y pulverizadas se suspendieron en agua hirviendo bajo continua agitación durante 30 minutos, luego fue filtrada a través de tela de algodón y mantenidas a 5°C. Se administraron 50 ml de la infusión en teteros de plástico de 100 ml al grupo PA en reemplazo del agua, con un consumo promedio de 7.59 ± 1.39 ml por animal. La infusión era cambiada cada 3 días.

Fármacos

Los fármacos utilizados fueron escopolamina, galantamina y nicotina. La escopolamina (Sigma-Aldrich) fue preparada a una concentración de 0.2 mg/ml en solución fisiológica (NaCl 0.9%) y administrada a una dosis de 2 mg/Kg de peso vía intraperitoneal (ip). La galantamina (MP Biomedicals) fue preparada a una concentración de 0.1 mg/ml en solución fisiológica (NaCl 0.9%) y administrada a una dosis de 1 mg/Kg de peso del animal vía ip. La nicotina (Sigma-Aldrich) fue preparada a una concentración de 0.01 mg/ml en solución fisiológica (NaCl 0.9%) y administrada a una dosis de 0.1 mg/Kg de peso del animal, vía ip. Los animales de los grupos control solución salina recibieron volúmenes equivalentes de NaCl 0.9% vía ip.

Protocolo de Habituación

Constó de 4 sesiones en las cuales fueron realizadas tres pruebas: LA, CA y EA. Cada prueba se ejecutó en un lapso de una semana para todos los grupos en forma alterna, siguiendo la siguiente secuencia: LA, CA y EA, seguido de una semana de descanso. Luego se administró cada droga para cada prueba y fue ensayada siguiendo el mismo esquema, empezando por escopolamina, galantamina y finalmente nicotina.

Laberinto de Ansiedad

El laberinto consta de 4 brazos de 50 cm de largo por 9.3 cm de ancho y una parte central 5x5 cm; dos de los brazos están rodeados por una pared de 39.8 cm de alto, mientras que las plataformas de los brazos abiertos daban directamente al vacío. El laberinto fue colocado a una altura de 81 cm y orientado de tal manera que los brazos cerrados fueron alineados de Norte a Sur. El material de construcción fue fibra de madera de densidad media (MDF), pintada de negro con pintura mate.

El test tuvo una duración total de 10 minutos, el ratón fue colocado en el brazo abierto con dirección al Oeste, y se dejó mover libre y espontáneamente, a partir de ese momento se cuantificó el tiempo de permanencia en los brazos y en el centro del laberinto, así como el número de desplazamientos de un brazo a otro.

Campo Abierto

Se llevó a cabo en una caja de 47,1 x 47,1 x 30 cm, con paredes periféricas construidas de MDF y una arena central de material acrílico, la cual fue dividida en 4 cuadrantes con una cinta adhesiva negra de 2 cm de ancho.

El ratón se colocó en el centro de la caja por un tiempo total de 15 minutos; 5 minutos fueron de adaptación, y 10 minutos en los cuales se cuantificó el número de desplazamientos horizontales (cada vez que se desplazó de un cuadrante a otro), y verticales (elevación de las patas delanteras manteniéndose apoyado en las traseras).

Enterramiento Aversivo

Para esta prueba fueron utilizados cilindros de vidrio de 30 cm de alto, y un diámetro de 30.3 cm, en los cuales se colocó concha de arroz seca hasta alcanzar una altura 9 cm; encima de la concha fueron colocadas 25 canicas de color negro distribuidas equidistantemente en 5 filas.

El test tuvo una duración de 30 minutos;

inició colocando al ratón en el centro de la arena con libre movimiento, al finalizar el tiempo se cuantificó el número de canicas enterradas.

Análisis de Resultados

Los datos obtenidos se expresaron en valores absolutos, porcentuales, promedios \pm Error Estándar. Para medir el fenómeno de habituación se comparó cada sesión (1, 2, 3) con la sesión de entrenamiento (sesión 0) a través de un método de Anova pareado. Para medir el efecto de las drogas, se compararon las sesiones entre sí a través de un método de Anova no pareado. Para medir el efecto de la PA, se utilizó un método T-Student en promedios con valores porcentuales para las sesiones 1, 2 y 3, y se comparó con el GC. Se utilizó un método de corrección de Bartlett's test. En todos los casos se aceptó una $p < 0.05$. Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism 6.0 (San Diego, CA).

Bioética

El protocolo de experimentación y manipulación de los animales fue aprobado por el Comité de Ética de Ciencias de la Salud de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela. La manipulación de los ratones se realizó de acuerdo con los criterios éticos para el uso de animales experimentales del Fondo Nacional para la Ciencia, Tecnología e Innovación FONACIT (http://www.cdc.fonacit.gob.ve/boletin/libro2_311003.html)

RESULTADOS

Nuestro objetivo fundamental se centró en estudiar el efecto modulador de la PA y drogas colinérgicas (escopolamina, galantamina y nicotina) sobre el fenómeno de habituación y deshabituación para cada una de las pruebas ensayadas. Experimentalmente, la habituación la definimos como la disminución progresiva de la conducta motora del animal al ser sometido repetidamente al mismo ensayo conductual; mientras que la deshabituación, la definimos como el incremento o el mantenimiento de la conducta motora inicial durante la reiteración de los ensayos.

Laberinto de Ansiedad

Tanto en el grupo control como en el grupo PA evidenciamos el fenómeno de deshabituación, reflejado en el incremento significativo de entradas tanto en los brazos cerrados como en los brazos abiertos del laberinto (Figura N° 1, Panel A, Tabla

Nº 1A y 1B). Adicionalmente, los ratones que ingirieron PA mostraron una conducta ansiolítica reflejada en el fenómeno de deshabitación observado en los brazos abiertos, y de habituación visualizado en los brazos cerrados, definidos por el aumento o disminución significativa en el tiempo de permanencia en los brazos abiertos o cerrados,

respectivamente. Por el contrario, los ratones que consumieron agua no mostraron diferencias estadísticamente significativas para los tiempos de permanencia, tanto en los brazos abiertos como en los brazos cerrados en las sesiones 1, 2 y 3, respecto a la sesión basal (Figura Nº 1, Panel B, Tabla Nº 1A y 1B).

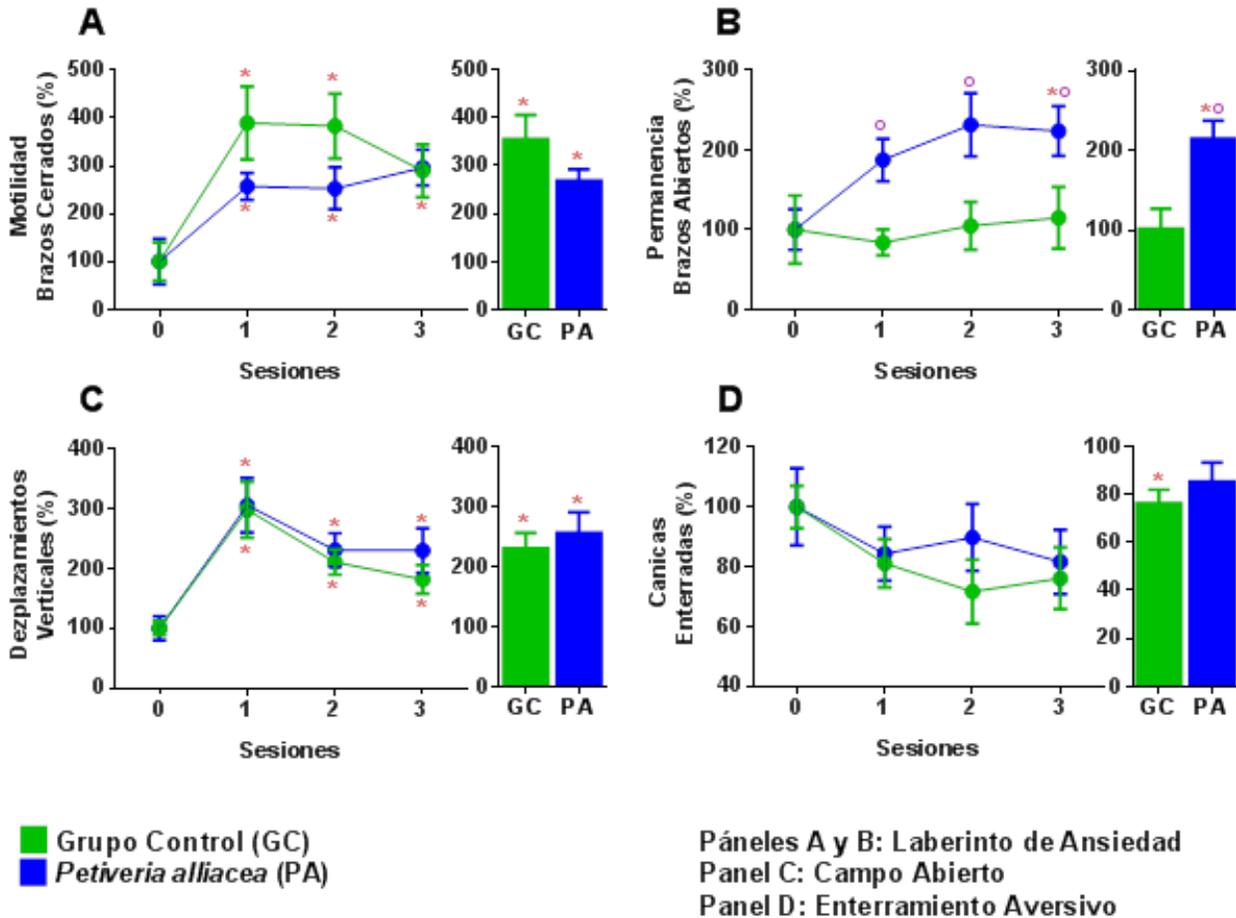


Figura Nº 1

Proceso de Habitación y Deshabitación para diferentes pruebas conductuales en ratones del Grupo Control y del Grupo tratado con *Petiveria alliacea*

En el eje de las Y para cada panel se indica la variable analizada y se representa el promedio ± Error Estándar de las sesiones 0, 1, 2 y 3 (Gráficos XY), mientras que el promedio de las sesiones de habituación 1, 2 y 3 con su Error Estándar es mostrado en los gráficos de barras. En los gráficos se observa un proceso de deshabitación que consistió en un aumento de la frecuencia de una conducta (Páneles A, B y C), y un proceso de habituación que indica la disminución de la frecuencia de una conducta (Panel D). * Significa $p < 0.05$ cuando las sesiones 1, 2, 3 y el promedio de habituación es diferente estadísticamente a la sesión 0 (sesión basal), (100%) de cada grupo. ^o Significa $p < 0.05$ cuando la habituación para cada sesión es diferente estadísticamente entre el grupo control y el grupo tratado con PA (ver Tabla Nº 1).

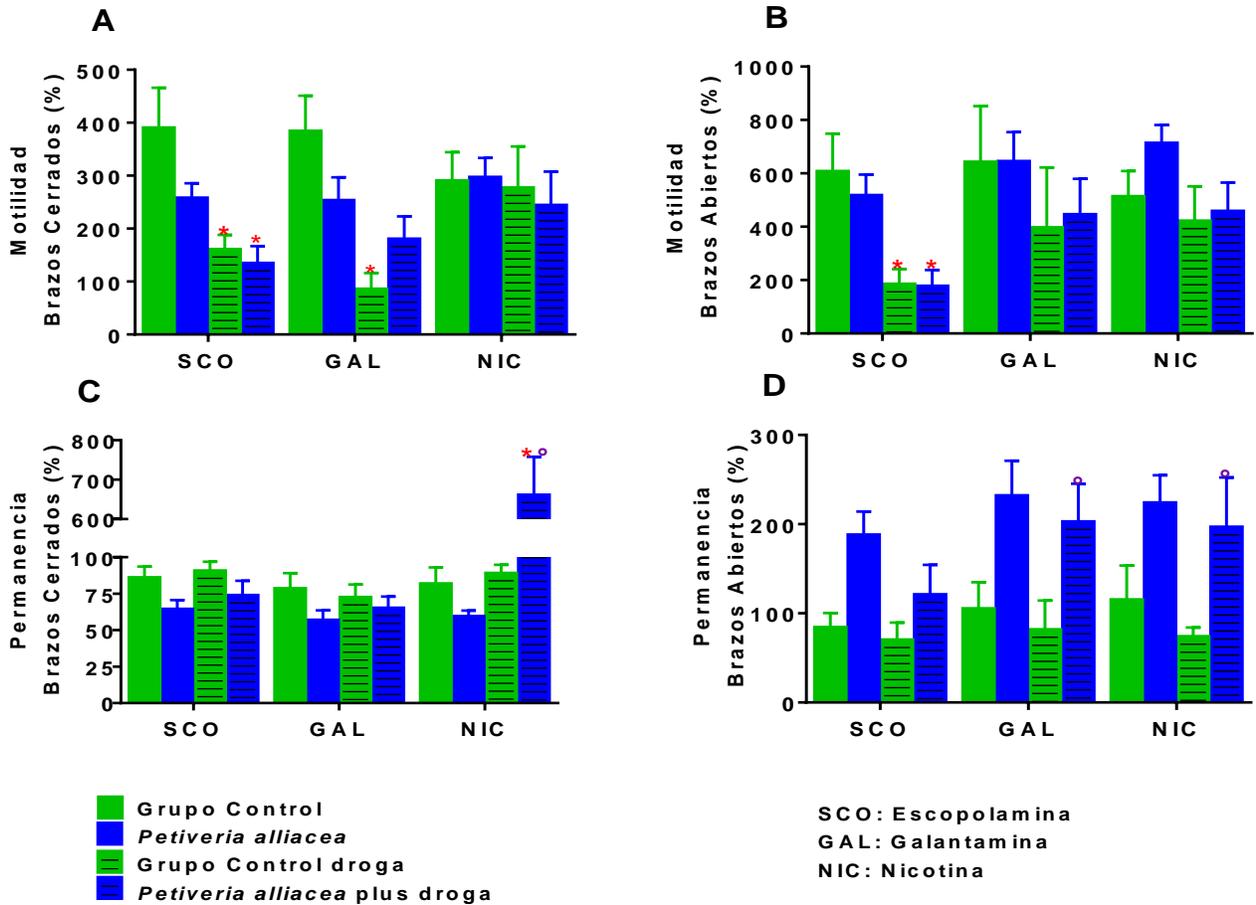


Figura N° 2

Efecto de los fármacos colinérgicos escopolamina, galantamina y nicotina sobre la habituación en el Laberinto elevado en cruz

Se analizó la motilidad en brazos cerrados (Panel A), motilidad en brazos abiertos (Panel B), la permanencia en brazos cerrados (Panel C) y permanencia en brazos abiertos (Panel D). El efecto de los fármacos fue analizado con respecto a su grupo control. * Significa $p < 0.05$ cuando los grupos tratados son estadísticamente diferentes a su respectivo grupo control. ° Significa $p < 0.05$ cuando al comparar ambos grupos tratados (Control droga y PA plus droga) son diferentes entre sí (ver Tabla N° 2).

De los fármacos colinérgicos ensayados solo escopolamina tuvo un efecto claro, al contrarrestar significativamente la deshabitación en la motilidad (disminución de los desplazamientos), tanto en los brazos abiertos como en los cerrados en ambos grupos (Figura N° 2, Panel A y B, Tabla N° 2). Similarmente, galantamina contrarrestó la deshabitación en la motilidad en los brazos cerrados, pero solo en el grupo que ingirió agua

(Figura N° 2, Panel A, Tabla N° 2). Finalmente, nicotina indujo deshabitación en los brazos cerrados al incrementar significativamente el tiempo de permanencia en dichos brazos (Figura N° 2, Panel C, Tabla N° 2).

Campo Abierto

Al igual que en el laberinto de ansiedad, los ratones de los grupos control y PA mostraron el fenómeno de

deshabitación, expresado en el incremento significativo de los desplazamientos verticales y horizontales en la arena (Figura N° 1, Panel C, Tabla N° 1A y 1B).

Galantamina contrarrestó significativa y totalmente el fenómeno de deshabitación en ambos grupos disminuyendo la frecuencia en los desplazamientos tanto verticales como horizontales,

mientras que nicotina tuvo el mismo efecto solo en ratones que consumieron PA. Sorpresivamente, escopolamina (antagonista de los receptores muscarínicos) tuvo un efecto similar a galantamina (agonista indirecto nicotínico y muscarínico) pero solamente en los desplazamientos verticales para ambos grupos (Figura N° 3, Paneles A y B, Tabla N° 2).

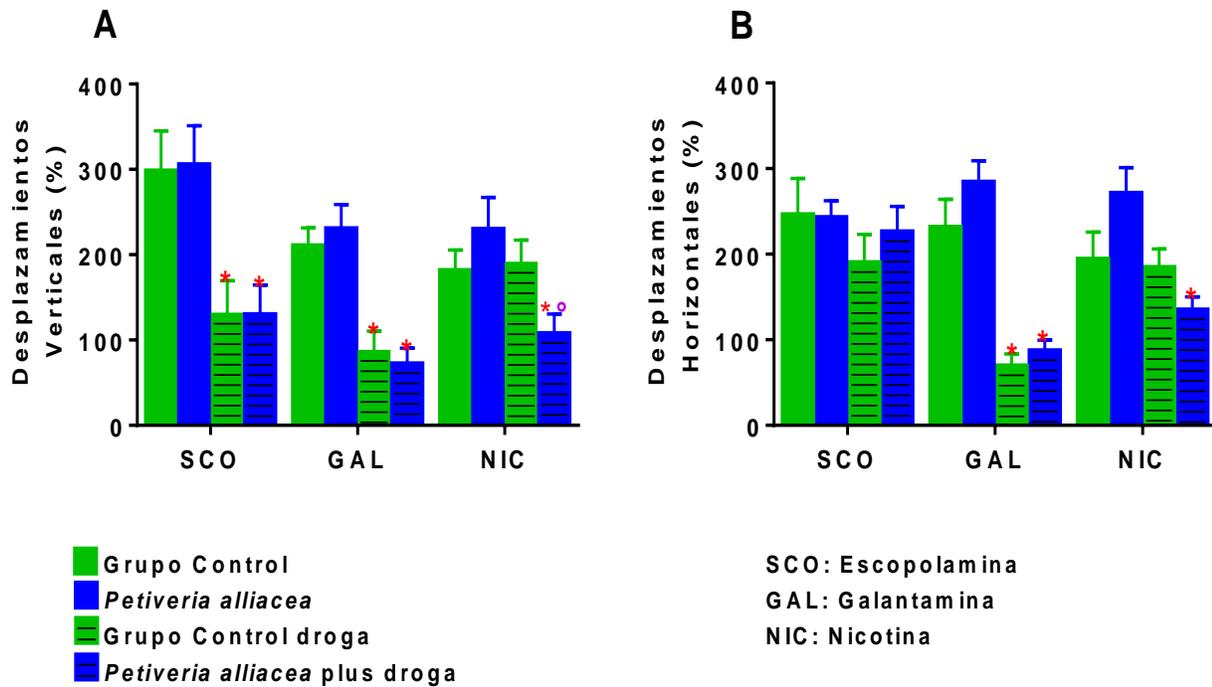


Figura N° 3
Efecto de los fármacos colinérgicos escopolamina, galantamina y nicotina sobre la habituación en la prueba de campo abierto

En esta prueba se analizaron los desplazamientos verticales (Panel A) y los desplazamientos horizontales (Panel B).

El efecto de cada droga fue analizado con respecto a su grupo control. * Significa $p < 0.05$ cuando los grupos tratados son estadísticamente diferentes a su respectivo grupo control. ° Significa $p < 0.05$ cuando al comprar ambos grupos tratados (Control droga y PA plus droga) son diferentes entre sí (ver Tabla N° 2).

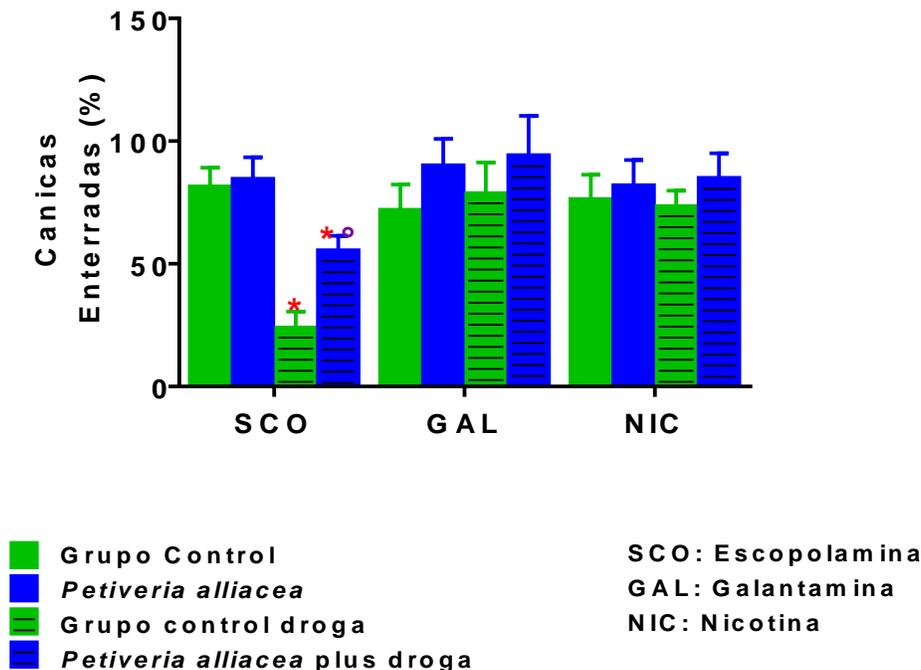


Figura N° 4

Efecto de los fármacos colinérgicos escopolamina, galantamina y nicotina sobre la habituación en la prueba de enterramiento aversivo (EA)

En esta prueba se analizó la frecuencia de canicas enterradas para cada uno de los grupos con respecto a su control.

* Significa $p < 0.05$ cuando los grupos tratados son estadísticamente diferentes a su respectivo grupo control.

° Significa $p < 0.05$ cuando al comprar ambos grupos tratados (Control droga y PA plus droga) son diferentes entre sí (ver Tabla N° 2).

Enterramiento aversivo

Tanto en los grupos que consumieron agua como en los grupos que ingirieron infusiones de PA se observó el fenómeno de habituación reflejado en la disminución significativa de la frecuencia de canicas enterradas en función de las sesiones ejecutadas, sin embargo, solo en el grupo control agua se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa al comparar el promedio del desempeño en las sesiones reiteradas (sesiones 1, 2 y 3) respecto al desempeño basal (sesión 0) (Figura N° 1, Panel C, Tabla N° 1A y 1B).

Escopolamina, contrario a lo esperado, potenció significativamente el fenómeno de habituación tanto en los grupos tratados con agua como en los grupos que recibieron PA (Figura N° 4 y

Tabla N° 2), siendo el efecto significativamente mayor en los ratones que consumieron PA al ser comparados con los ratones que ingirieron agua. Por otra parte, nicotina y galantamina no tuvieron efecto sobre el fenómeno de habituación (Figura N° 4, Tabla N° 2).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo observamos que los ratones que consumieron la infusión de *Petiveria alliacea* incrementaron significativamente el tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto de ansiedad, indicando un efecto ansiolítico del extracto

acuoso de la planta, la cual fue demostrada a través del fenómeno de deshabituación.

En tal sentido, extractos crudos, fracciones y constituyentes fitoquímicos aislados de diferentes partes de la *Petiveria alliacea* han mostrado un espectro variado de propiedades neurofarmacológicas incluyendo efectos ansiolíticos (Luz *et al.*, 2016), sin embargo, el estudio de esta propiedad farmacológica en animales experimentales han dado resultados controversiales. Así, por ejemplo, de Andrade *et al.* (2012) trabajando con ratas Wistar mostraron que el consumo del extracto hidroalcohólico de la *Petiveria alliacea* incrementaba el tiempo de permanencia en los brazos cerrados del laberinto de ansiedad, indicando un efecto ansiogénico, sin embargo, estos resultados no se correspondieron con el incremento de la motilidad observado en el campo abierto y la disminución de la inmovilidad observada en el nado forzado, que por el contrario indicaban efectos antidepresivos o ansiolíticos. Por otra parte, Gomes *et al.* (2008) trabajando con ratones hembras encontraron que, fracciones de la raíz de la planta disminuyeron la actividad locomotriz en la prueba de campo abierto, redujeron el tiempo de permanencia en los brazos abiertos en el laberinto de ansiedad, aumentaron el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado y el tiempo de sueño inducido por pentobarbital, sugiriendo un probable efecto sedante y depresor central, con ausencia de efectos ansiolíticos. Esta heterogeneidad de resultados, pudo haber sido por el origen y tipo de extracto de la planta utilizada, en este sentido, Blainski *et al.* (2010) trabajando con el laberinto de ansiedad demostraron que el extracto acuoso de toda la planta presentaba efectos ansiolíticos, sin embargo, observaron que los extractos preparados a partir de las partes aéreas de la planta tenían efectos ansiogénicos, mientras que los extractos de la raíces no exhibían ningún efecto.

Por otra parte, observamos que los ratones que recibieron la infusión de *Petiveria alliacea* y nicotina, mostraron un efecto ansiogénico en el laberinto de ansiedad incrementando el tiempo de permanencia en los brazos cerrados del ensayo, evidenciado por medio del fenómeno de deshabituación. Ouagazzal *et al.* (1999) reportaron que nicotina a bajas dosis (1 a 100 µg/kg) no tiene efecto en el laberinto de ansiedad, mientras que altas dosis (0.5 a 1 mg/kg) tiene efectos ansiogénicos al disminuir el tiempo de permanencia y las entradas en los brazos abiertos. De este modo, File *et al.* (2002) y Tucci *et al.* (2002), demostraron que la nicotina

administrada de forma subcutánea solamente en altas dosis (0.45 a 1 mg/kg) tiene efectos ansiogénicos sobre la prueba de interacción social y el laberinto elevado en cruz, observado en el aislamiento del animal y en porcentajes significativamente más bajos de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos de las pruebas con respecto al grupo control. En tal sentido, en el presente trabajo se utilizaron dosis bajas de nicotina (0.1 mg/kg), indicando que *Petiveria alliacea* potencia el efecto ansiogénico de nicotina.

Por último, observamos sorpresivamente que escopolamina produjo una disminución en la conducta motora exploratoria reflejada en la motilidad en los brazos abiertos y cerrados en el laberinto de ansiedad, y en los desplazamientos verticales o alzadas en el campo abierto, además disminuyó la frecuencia de canicas enterradas en el enterramiento aversivo para ambos grupos, potenciando el fenómeno de habituación, efecto que puede ser interpretado como un elemento ansiolítico que disminuye la conducta obsesivo compulsiva. En tal sentido, Broekkamp *et al.* (1986) demostraron que medicamentos con un efecto anticolinérgico como la escopolamina, redujeron significativamente el número de canicas enterradas en la prueba enterramiento aversivo. Recientemente ha sido reportado utilizando la estrategia de estrés crónico impredecible (CUS), que el tratamiento agudo con escopolamina revierte rápidamente los comportamientos depresivos inducidos por el estrés en ratones, este efecto estuvo asociado a un incremento en la transmisión glutamatérgica y de los niveles del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Yu *et al.*, 2018). Asimismo, en poblaciones clínicamente deprimidas y bipolares, la escopolamina ha sido efectiva para reducir los síntomas depresivos y actuar como ansiolítico (Hamilton *et al.*, 2017). Halfff *et al.* (2014), demostraron que la activación de los receptores nicotínicos $\alpha 7$ en las neuronas postsinápticas, induce la estabilización y acumulación de receptores glutamatérgicos tipo AMPA en las espinas dendríticas, ambos reportes sustentan el efecto facilitador de acetilcolina en la potenciación sináptica mediada por glutamato. En consecuencia, al ser una droga ansiolítica que favorece la transmisión glutamatérgica, escopolamina favorecería la habituación en diferentes contextos, tal y como es reportado en el presente trabajo.

Por otra parte, si asumimos la habituación como una forma de aprendizaje en la cual un

organismo aprende a dejar de responder a estímulos novedades, que ya no son biológicamente relevantes (Terry *et al.*, 1979) y constatamos que nuestros ensayos valoraron la recuperación o recuerdo de eventos o información almacenada en el pasado (memory retrieval) a través de la exposición de los ratones a disímiles ambientes, entonces escopolamina favoreció la memoria de eventos consolidados. Ha sido demostrado que escopolamina afecta la adquisición de la memoria, cuando es administrada con antelación a la primera sesión de trabajo, alterando la habituación en la segunda sesión (Ukai *et al.*, 1994), sin embargo, no afecta la recuperación y el recuerdo de conductas aprendidas por lo que escopolamina no bloquearía este proceso, sino por el contrario lo facilitaría (Huang *et al.*, 2011).

En conclusión, el extracto acuoso de PA mostró un efecto ansiolítico reflejado en el aumento del tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto, evocando un fenómeno de deshabitación; potenció el efecto ansiogénico de la nicotina incrementando el tiempo de permanencia en los brazos cerrados del laberinto de ansiedad; galantamina no presentó ningún efecto sorpresivo y escopolamina por su parte, disminuyó la frecuencia de canicas enterradas en el enterramiento aversivo reduciendo la conducta obsesivo-compulsiva a través del fenómeno habituación motora, indicando que podría tener un efecto antidepresivo y ansiolítico que favorece el recuerdo de eventos consolidados.

REFERENCIAS

- Abd Rashid N, Hapidin H, Abdullah H, Ismail Z, Long I. 2017. Nicotine-prevented learning and memory impairment in REM sleep-deprived rat is modulated by DREAM protein in the hippocampus. **Brain Behavior** 7: e00704.
<https://doi.org/10.1002/brb3.704>
- Ago Y, Koda K, Takuma K, Matsuda T. 2011. Pharmacological aspects of the acetylcholinesterase inhibitor galantamine. **J Pharmacol Sci** 116: 6 - 17.
<https://doi.org/10.1254/jphs.11r01cr>
- Blainski A, Piccolo VK, Mello JCP, de Oliveira RMW. 2010. Dual effects of crude extracts obtained from *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae) on experimental anxiety in mice. **J Ethnopharmacol** 128: 541 - 544.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.01.012>
- Blake MG, Boccia MM, Krawczyk MC, Baratti CM. 2011. Scopolamine prevents retrograde memory interference between two different learning tasks. **Physiol Behav** 102: 332 - 337.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.11.026>
- Broekkamp CL, Rijk HW, Joly-Gelouin D, Lloyd KL. 1986. Major tranquilizers can be distinguished from minor tranquilizers on the basis of effects on marble burying and swim-induced grooming in mice. **Eur J Pharmacol** 126: 223 - 229.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(86\)90051-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(86)90051-8)
- Calabresi P, Centonze D, Gubellini P, Pisani A, Bernardi G. 1998. Blockade of M2-like muscarinic receptors enhances long-term potentiation at corticostriatal synapses. **Eur J Neurosci** 10: 3020 - 3023.
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00348.x>
- Cevik MÖ. 2014. Habituation, sensitization, and Pavlovian conditioning. **Front Integ Neurosci** 8: 1 - 6.
<https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00013>
- Chan W, Singh S, Keshav T, Dewan R, Eberly C, Maurer R, Nuñez-Parra A, Araneda RC. 2017. Mice lacking M1 and M3 muscarinic acetylcholine receptors have impaired odor discrimination and learning. **Front Synapt Neurosci** 9: 1 - 12.
<https://doi.org/10.3389/fnsyn.2017.00004>
- de Andrade TM, de Melo AS, Dias RG, Varela EL, de Oliveira FR, Vieira JL, de Andrade MA, Baetas AC, Monteiro MC, Maia CS. 2012. Potential behavioral and pro-oxidant effects of *Petiveria alliacea* L. extract in adult rats. **J Ethnopharmacol** 143: 604 - 610.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.020>
- Douglas CL, Baghdoyan HA, Lydic R. 2001. M2 muscarinic autoreceptors modulate acetylcholine release in prefrontal cortex of C57BL/6J mouse. **J Pharmacol Exp Therapeut** 299: 960 - 966.
<https://doi.org/10.1152/jn.2002.87.6.2817>
- Estrada-Reyes R, Ubaldo-Suárez D, Araujo-Escalona AG. 2012. Los flavonoides y el sistema nervioso central. **Salud Mental** 35: 375 - 384.
- Fajemiroye JO, da Silva DM, de Oliveira DR, Costa EA. 2016. Treatment of anxiety and

- depression: medicinal plants in retrospect. **Fund Clin Pharmacol** 30: 198 - 215.
<https://doi.org/10.1111/fcp.12186>
- Faustino TT, Almeida RB, Andreatini R. 2010. Medicinal plants for the treatment of generalized anxiety disorder: a review of controlled clinical studies. **Rev Brasil Psiquiat** 32: 429 - 436.
- File SE, Cheeta S, Irvine EE, Tucci S, Akthar M. 2002. Conditioned anxiety to nicotine. **Psychopharmacology** 164: 309 - 317.
<https://doi.org/10.1007/s00213-002-1219-7>
- Gomes PB, Noronha EC, de Melo C, Bezerra J, Neto MA, Lino CS, Vasconcelos SMM, Glauce SB, Viana GSB, de Sousa FCF. 2008. Central effects of isolated fractions from the root of *Petiveria alliacea* L. (tipi) in mice. **J Ethnopharmacol** 120: 209 - 214.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.012>
- Half AW, Gómez-Varela D, John D, Berg DK. 2014. A novel mechanism for nicotinic potentiation of glutamatergic synapses. **J Neurosci** 34: 2051 - 2064.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2795-13.2014>
- Hamilton TJ, Morrill A, Lucas K, Gallup J, Harris M, Healey M, Pitman T, Schalomon M, Digweed S, Tresguerres M. 2017. Establishing zebrafish as a model to study the anxiolytic effects of scopolamine. **Scientific Rep** 7: 1 - 9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-15374-w>
- Huang ZB, Wang H, Rao XR, Zhong GF, Hu WH, Sheng GQ. 2011. Different effects of scopolamine on the retrieval of spatial memory and fear memory. **Behav Brain Res** 221: 604 - 609.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.05.032>
- Luz DA, Pinheiro AM, Silva ML, Monteiro MC, Prediger RD, Ferraz Maia CS, Fontes-Júnior EA. 2016. Ethnobotany, phytochemistry and neuropharmacological effects of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae): A review. **J Ethnopharmacol** 185: 182 - 201.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.053>
- Marchi M, Raiteri M. 1989. Interaction acetylcholine-glutamate in rat hippocampus: involvement of two subtypes of M-2 muscarinic receptors. **J Pharmacol Exp Therapeut** 248: 1255 - 1260.
- Maurer SV, Williams CL. 2017. The cholinergic system modulates memory and hippocampal plasticity via its interactions with non-neuronal cells. **Front Immunol** 8: article 1489.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01489>
- Morgado I. 2005. Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. **Rev Neurol** 40: 289 - 297.
<https://doi.org/10.33588/rn.4005.2005004>
- Morita M, Takeda N, Hasegawa S, Yamatodani A, Wada H, Sakai S, Kubo T, Matsunaga T. 1990. Effects of anti-cholinergic and cholinergic drugs on habituation to motion in rats. **Acta Oto-Laryngol** 110: 196 - 202.
<https://doi.org/10.3109/00016489009122537>
- Nagahara AH, Handa RJ. 1999. Loss of nicotine-induced effects on locomotor activity in fetal alcohol-exposed rats. **Neurotoxicol Teratol** 21: 647 - 652.
[https://doi.org/10.1016/s0892-0362\(99\)00040-9](https://doi.org/10.1016/s0892-0362(99)00040-9)
- Narahashi T, Moriguchi S, Zhao X, Marszalec W, Yeh JZ. 2004. Mechanisms of action of cognitive enhancers on neuroreceptors. **Biol Pharmaceut Bull** 27: 1701 - 1706.
<https://doi.org/10.1248/bpb.27.1701>
- Ouagazzal AM, Kenny PJ, File SE. 1999. Modulation of behaviour on trials 1 and 2 in the elevated plus-maze test of anxiety after systemic and hippocampal administration of nicotine. **Psychopharmacology** 144: 54 - 60.
<https://doi.org/10.1007/s002130050976>
- Pepeu G, Giovannini MG. 2004. Changes in acetylcholine extracellular levels during cognitive processes. **Learning & Memory** 11: 21 - 27.
<http://doi.org/10.1101/lm.68104>
- Pilz PK, Arnold SW, Rischawy AT, Plappert CF. 2014. Longterm-habituation of the startle response in mice is stimulus modality, but not context specific. **Front Integrative Neurosci** 7: article 103.
<https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00103>
- Rankin CH, Abrams T, Barry RJ, Bhatnagar S, Clayton DF, Colombo J, Coppola G, Geyer MA, Glanzman DL, Marsland S, McSweeney FK, Wilson DA, Wu CF, Thompson RF. 2008. Habituation revisited: an updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. **Neurobiol**

- Learning Memory** 92: 135 - 138.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.09.012>
- Sahakian B, Jones G, Levy R, Gray J, Warburton D. 1989. The effects of nicotine on attention, information processing, and short-term memory in patients with dementia of the Alzheimer type. **Brit J Psych** 154: 797 - 800.
<https://doi.org/10.1192/bjps.154.6.797>
- Sariego S, Marin J, Ochoa A, Rivero D, Sariego O. 2015. Determinación de metales, fenoles totales y flavonoides totales en extractos de las hojas de *Petiveria alliacea* L. (anamú). **Rev Cenic Cienc Quím** 46.
- Scerri C, Stewart CA, Breen KC, Balfour DJK. 2006. The effects of chronic nicotine on spatial learning and bromodeoxyuridine incorporation into the dentate gyrus of the rat. **Psychopharmacology** 184: 540 - 546.
<https://doi.org/10.1007/s00213-005-0086-4>
- Schmid S, Wilson DA, Rankin CH. (2015). Habituation mechanisms and their importance for cognitive function. **Frontiers Integrative Neurosci** 8: article 97.
<https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00097>
- Silva ML, Luz DA, Paixão TP, Silva JPB, Belém-Filho IJ, Fernandes LM, Gonçalves AC, Fontes-Júnior EA, de Andrade MA, Maia CS. 2015. *Petiveria alliacea* exerts mnemonic and learning effects on rats. **J Ethnopharmacol** 169: 124 - 129.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.04.005>
- Smythe JW, Bhatnagar S, Murphy D, Timothy C, Costall B. 1998. The effects of intrahippocampal scopolamine infusions on anxiety in rats as measured by the black-white box test. **Brain Res Bull** 45: 89 - 93.
[https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(97\)00311-0](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(97)00311-0)
- Stafford GI, Pedersen ME, van Staden J, Jäger AK. 2008. Review on plants with CNS-effects used in traditional South African medicine against mental diseases. **J Ethnopharmacol** 119: 513 - 537.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.010>
- Terry WS. 1979. Habituation and dishabituation of rats' exploration of a novel environment. **Animal Learning Behav** 7: 525 - 536.
<https://doi.org/10.3758/BF03209714>
- Thiel CM, Huston JP, Schwarting RK. 1998. Hippocampal acetylcholine and habituation learning. **Neuroscience** 85: 1253 - 1262.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(98\)00030-x](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(98)00030-x)
- Tucci S, Cheeta S, Genn RF, Seth P, File SE. 2002. Anxiety conditioned to nicotine in the elevated plus-maze is time dependent. **Behav Pharmacol** 13: 615 - 620.
<https://doi.org/10.1097/00008877-200212000-00002>
- Typlt M, Mirkowski M, Azzopardi E, Ruth P, Pilz PK, Schmid S. 2013. Habituation of reflexive and motivated behavior in mice with deficient BK channel function. **Frontiers Integrative Neurosci** 7: article 79.
<https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00079>
- Ukai M, Kobayashi T, Kameyama T. 1994. Characterization of the effects of scopolamine on the habituation of exploratory activity: differential effects of oxotremorine and physostigmine. **Gen Pharmac** 25: 433 - 438.
[https://doi.org/10.1016/0306-3623\(94\)90193-7](https://doi.org/10.1016/0306-3623(94)90193-7)
- Van der Zee EA, Biemans BA, Gerkema MP, Daan S. 2004. Habituation to a test apparatus during associative learning is sufficient to enhance muscarinic acetylcholine receptor-immunoreactivity in rat suprachiasmatic nucleus. **J Neurosci Res** 78: 508 - 519.
<https://doi.org/10.1002/jnr.20300>
- Wolman MA, Jain RA, Marsden KC, Bell H, Skinner J, Hayer KE, Hogenesch JB, Granato M. 2015. A genome-wide screen identifies PAPP-AA-mediated IGFR signaling as a novel regulator of habituation learning. **Neuron** 85: 1200 - 1211.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.02.025>
- Woodruff-Pak DS, Lander C, Geerts H. 2002. Nicotinic cholinergic modulation: galantamine as a prototype. **CNS Drug Rev** 8: 405 - 426.
<https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2002.tb00237.x>
- Yu H, Li M, Zhou D, Lv D, Liao Q, Lou Z, Shen M, Wang Z, Li M, Xiao X, Zhang Y, Wang C. 2018. Vesicular glutamate transporter 1 (VGLUT1)-mediated glutamate release and membrane GluA1 activation is involved in the rapid antidepressant-like effects of scopolamine in mice. **Neuropharmacology** 131: 209 - 222.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.12.028>