

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE FARMACOLOGÍA

EFEECTO DEL EXTRACTO DE HOJA DE *Cecropia sp.* SOBRE LA CONDUCTA EN RATAS, EN LA PRUEBA DE LABERINTO EN CRUZ ELEVADO ASIMÉTRICO Y TIEMPO DE SUEÑO INDUCIDO POR PENTOBARBITAL SÓDICO.

Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al **TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO.**

RODRIGO EDUARDO CORREA LÓPEZ

VALDIVIA – CHILE

2005

PROFESOR PATROCINANTE:

Dr. Marcos Moreira E.

PROFESOR COPATROCINANTE:

Dr. Frederick Ahumada M.

PROFESOR CALIFICADOR:

Dr. Juan L. Hancke O.

PROFESOR CALIFICADOR:

Dra. Carolina Gallardo M.

FECHA DE APROBACIÓN:

4 de Marzo de 2005.

*Con amor, a mi familia
y amigos*

ÍNDICE.

	Pág.
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	18
DISCUSIÓN.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	31
ANEXOS.....	36

1. RESUMEN.

“EFECTO DEL EXTRACTO DE *Cecropia sp.* SOBRE LA CONDUCTA EN RATAS, EN LA PRUEBA DE LABERINTO EN CRUZ ELEVADO ASIMÉTRICO Y TIEMPO DE SUEÑO INDUCIDO POR PENTOBARBITAL SÓDICO.”

Se estudió el efecto del extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp.* sobre el sistema nervioso central de ratas, mediante la realización de las pruebas de observación en Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño Inducido por Pentobarbital Sódico.

Se utilizaron 45 ratas machos Sprague-Dawley distribuidas al azar en 3 grupos de 15 animales cada uno. La distribución de los grupos fue la siguiente: 1) Agua destilada; 2) Diazepam más agua destilada y propilenglicol (solución al 0,02%), en dosis de 1 mg/kg; 3) Agua destilada más extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp.* (solución al 2%) en dosis de 100 mg/kg.

Las ratas se sometieron a un ayuno de 24 horas previo al inicio del experimento. Los fármacos se administraron por vía oral, a través de sonda bucoesofágica, 45 minutos antes del inicio de las pruebas. La primera prueba fue la observación en Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico por un tiempo de 5 minutos, durante los cuales se registraron las variables estipuladas en la pauta de observación programada. Inmediatamente después de terminada esta prueba, se administró Pentobarbital Sódico en dosis de 15 mg/kg, por vía intraperitoneal, iniciando la prueba de Tiempo de Sueño Inducido, registrándose el tiempo para cada variable en medición.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de Tiempo de Sueño Inducido, es posible concluir, que el extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp.*, en dosis de 100 mg/kg, administrado por vía oral, produce depresión del sistema nervioso central, debido a que aumentó el tiempo de Hipnosis y de Depresión Total. Sin embargo, en la prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, no aumentó el número de entradas y el tiempo de permanencia en el brazo abierto, indicando que no tiene efecto ansiolítico.

Palabras claves: *Cecropia sp.*, ratas, ansiedad, Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, Pentobarbital Sódico.

2. SUMMARY.

“EFFECT OF THE ADMINISTRATION OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Cecropia sp.* ON THE BEHAVIOR OF RATS USING ELEVATED ASYMMETRIC PLUS MAZE AND INDUCED SLEEPING TIME BY PENTHOBARBITAL SODIUM”.

The effect of hydroalcoholic extract from *Cecropia sp.* on the Central Nervous System of rats was studied, by testing in Elevated Asymmetric Plus Maze and Induced Sleeping Time by Pentobarbital Sodium.

Forty five Sprague – Dawley male rats were used and distributed at random in three groups of fifteen animals each. The distribution was as follows: 1) Distilled water 2) Solution of Diazepam at 0,02%, in dose of 1 mg/kg, 3) Distilled water with hydroalcoholic extract of *Cecropia sp.* (Solution at 2%) in dose of 100 mg/kg.

The rats were maintained in fasting for 24 hours previous to the beginning of experiment. The solutions were given orally, through one oesophagic catheter, 45 minutes before starting the test. The first test was the Elevated Asymmetric Plus Maze for five minutes, where the considered variables in the programmed guide of observation were recorded. Immediately after this test was finished, Pentobarbital Sodium was given in dose of 15 mg/kg, by ip injection, beginning the Induced Sleeping Time test, where time for each variable measured were recorded

According to the results obtained in the test of Induced Sleeping Time, it is possible to conclude that the hydroalcoholic extract of *Cecropia sp.* in dose of 100 mg/kg, administered per os., depress the central nervous system, due to increasing time of Hypnosis and Total Depression. However, in the test of Elevated Asymmetric Plus Maze, the number of entries and time spent in the open arm was not increased, suggesting that it has not an anxiolytic-like effect.

Keywords: *Cecropia*, rats, anxiety, Elevated Asymmetric Plus Maze, Induced Sleeping Time.

3. INTRODUCCIÓN.

3.1. MEDICINA TRADICIONAL Y FITOTERAPIA.

El término “Medicina tradicional” se refiere al uso técnicas alternativas utilizadas ancestralmente, a las cuales se les atribuye propiedades curativas, no siempre demostradas científicamente (Magalhaes, 1999). La “Fitoterapia” es un término procedente del griego (Phytos: planta y Terapia: tratamiento), que corresponde a la ciencia del tratamiento de las enfermedades por medio de las plantas o sustancias vegetales (Montes y Wilkomirsky, 1985; Briones, 1990).

Desde la antigüedad, las culturas más disímiles coincidieron en reconocer la utilidad del uso de hierbas y plantas para el tratamiento de enfermedades (Magalhaes, 1999). El hombre primitivo obtuvo de ellas los medios para su alimentación, abrigo, salud y bienestar general. Así, los primeros medicamentos tuvieron su origen en las plantas, muchas de las cuales, por sus propiedades curativas, están actualmente en uso (Montes y col., 1992).

Se tiene conocimiento de que los primeros en detallar los usos de las hierbas y plantas fueron los chinos entre los años 2500 y 3000 antes de Cristo, al igual que los egipcios que hacia el año 2500 a.C. contaban con médicos herbolarios que trataban a sus pacientes en base a plantas medicinales e incluso tóxicas. Luego le siguieron los hindúes y los griegos, estos últimos fueron los primeros en sistematizar el conocimiento de las plantas a través de libros sobre hierbas, que luego se conocieron en occidente (Hoffman y col., 1992). La influencia más permanente de la fitoterapia, hasta nuestros días, procede de la clásica obra “Materia Médica de Dioscórides” (Siglo I d.C.), en la que describió más de 600 plantas medicinales (Montes y col, 1992).

En América, los Mayas, Aztecas, Incas y Aymaras, lograron un alto grado de conocimiento en botánica médica. En Chile, las plantas medicinales de uso más corriente reconocen como fuente de origen, especies nativas usadas por lo mapuches y especies introducidas por los europeos. Los cronistas españoles reportaron que los mapuches conocían y manejaban cerca de 200 especies de hierbas con propiedades terapéuticas (Farga y col., 1988). Su uso se ha llevado a cabo por recomendación popular, basado en las valiosas experiencias recogidas y transmitidas de generación en generación (Montes y Wilkomirsky, 1985; Farga y col., 1988).

Durante el siglo XIX el uso de las plantas medicinales fue perdiendo adeptos, restringiéndose su práctica a los lugares apartados debido a que los medicamentos se fueron obteniendo cada vez más por medio de procesos químicos industriales (Hoffman y col., 1992).

Este desarrollo de la química estableció las bases para la caracterización detallada y estudio experimental de los principios activos farmacológicos derivados de fuentes naturales, posteriormente se produjo un rápido desarrollo en el aislamiento de principios activos de una gran variedad de plantas medicinales (Booth y McDonald, 1988). En Chile, el uso de las plantas medicinales disminuyó considerablemente, a fines de los años 40, desde que comenzó la elaboración industrial de medicamentos (Medina, 1998).

Al pasar el tiempo, se hizo evidente que los productos sintéticos, a pesar de ser muy efectivos para atacar las enfermedades, pueden provocar efectos secundarios no deseados. Tal hecho derivó en un control más estricto de los medicamentos. Sin embargo, aumentó el temor a los fármacos sintéticos y comenzó un movimiento popular encaminado a volver a lo natural (Hoffman y col., 1992).

En los países en vías de desarrollo, la falta de poder adquisitivo llevó a que la mayor parte de la población no tuviera acceso a los medicamentos industrializados, permitiendo de tal manera, que las plantas medicinales adquieran cada vez mayor importancia (Hoffman y col., 1992; Sharapin, 2000). Dentro de esta tendencia, la medicina tradicional fue reconocida en los años 70 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), lo que confirió un poderoso impulso a la investigación de las plantas medicinales (Magalhaes, 1999).

Actualmente, en varios países, el empleo de plantas medicinales es importante en los cuidados básicos de la población, siendo utilizados por grandes masas en el tratamiento de las enfermedades a pesar de los avances en la medicina y farmacia moderna (Guerra y Sánchez, 1984; RIVAPLAMED, 1996; Medina, 1998).

La organización mundial de la salud está estimulando a los países a identificar y aprovechar los aspectos de la medicina tradicional. Es así, como a través de la resolución WHA 31.33, reconoció la importancia de las plantas medicinales, y recomendó que sean establecidos “criterios científicos y métodos para asegurar la calidad de las preparaciones obtenidas con plantas medicinales y su efectividad en el tratamiento de condiciones y enfermedades específicas; patrones internacionales y especificaciones de identidad, pureza, potencia y buenas prácticas de fabricación, métodos para el uso seguro y eficaz de productos fitoterapéuticos por diferentes profesionales del área de la salud y establecimiento de Centros de Investigación y Capacitación para el estudio de plantas medicinales” (Sharapin, 2000). De esta manera surge el concepto de “Validación” de las plantas medicinales, que se refiere a la serie de conocimientos y pruebas experimentales, que puedan permitir tener la razonable garantía sobre la seguridad y la eficacia en su proyección terapéutica al ser humano (Villar, 1996).

Según Villar (1996), para aceptar que las plantas puedan ser utilizadas como medicamento se debe considerar que otorguen la garantía de:

- Seguridad, mediante el conocimiento de su uso y no toxicidad ancestral, la ausencia de toxicidad mediante referencias bibliográficas y pruebas toxicológicas experimentales sencillas.
- Eficacia, mediante el conocimiento tradicional y bibliográfico de su aplicación terapéutica, y ensayos farmacológicos *in vitro* e *in vivo* que validen su uso terapéutico.
- Calidad, mediante el conocimiento de sus principios activos cuali- y cuantitativamente, o a falta de ellos, de sustancias marcadoras de calidad.
- Y además, considera realizar ensayos farmacológicos clínicos como garantía de una farmacovigilancia efectiva.

Se reconoce que las propiedades medicinales de las plantas, reside en la presencia de principios activos, que tienen la capacidad de producir transformaciones fisiológicas para sanar algunos males o enfermedades (CETAL, 1993). Los principios activos son sustancias que la planta ha sintetizado y almacenado en el curso de su crecimiento (Briones, 1990). Son producidos y almacenados en diversas partes de la planta y se encuentran unidos a otros constituyentes formando el fitocomplejo activo, del cual se liberan gradualmente en el organismo. La mayoría de los principios activos pueden clasificarse en 2 grandes grupos: alcaloides y flavonoides, uno u otro son componente mayoritarios en las plantas y de una u otra manera determinan su acción (Montes y Wilkomirsky, 1985; Hoffman y col., 1992).

3.2. *Cecropia sp.* (Foto 1 y 2)

Cecropia sp. pertenece al orden Urticales, familia *Cecropiaceae*, también conocida como burriada, cético, embauba¹, chancarro, hormiguillo, grayumbo, trompeto, guarumo, yagrumo, guarumbo (Perez-Guerrero y col., 2001). Existen 61 especies dentro del género *Cecropia* (Lobova y col., 2003).

Es un árbol de hasta 15 m de altura, poco ramificado, recto, con tronco liso y anillado. Hojas orbiculares, de 30 a 50 cm de diámetro, generalmente con 7 a 9 lóbulos que llegan hasta la mitad de la hoja o más, de obtusos a redondeados en el ápice. Lámina algo escábrida en el haz y densamente blanco-tomentosa en el envés. Pecíolo grueso, de hasta 30 a 40 cm de largo, pubescente. Estípulas de 6 a 9 cm de longitud. Espigas masculinas en grupos de 12 a 30, de unos 2 a 5 cm de largo, cortamente pediceladas; espigas femeninas amarillentas, sésiles, dispuestas en grupos de 2 a 6, de unos 4 a 5 cm de largo y algo más gruesas que las masculinas, agrandándose en la fructificación. Fruto de 10 a 12 cm de largo, grisáceo con punteado negruzco, carnoso, conteniendo una semilla¹.

Es originario de América Central, cuya distribución abarca desde el sur de México hasta el norte de América del Sur. En selvas centroamericanas se puede encontrar a nivel del mar

¹ www.arbolesornamentales.com. Revisado el 26 de Abril de 2004.

como a una altitud de los 800 metros². Es una especie que crece cerca de los arroyos. Se desarrolla en suelos con buen drenaje como son los volcánicos y sedimentarios².



Foto 1: *Cecropia sp.*²



Foto 2: Hoja de *Cecropia sp.*³

No hay mucha información con respecto a la fitoquímica de *Cecropia sp.* Sin embargo, algunas publicaciones se refieren a que las hojas y corteza contienen alcaloides, glicósidos cardiotónicos y saponínicos, taninos, triterpenos y flavonoides (Perez Guerrero y col., 2001). Siendo estos últimos, los que se encuentran en mayor cantidad (Rocha y col., 2002). Se han aislado dos flavonoides de la fracción butanólica de *Cecropia glazioui*, estos son la orientina e isorientina, los cuales se relacionan con el efecto ansiolítico de la planta (Rocha y col., 2002). Similares compuestos se han aislado de *Cecropia obtusifolia*, estos son: ácido clorogénico e isorientina, los cuales poseen propiedades hipoglicemiantes (Andrade-Cetto y Wiedenfeld. 2001).

Su principal uso en la medicina tradicional esta relacionado con el tratamiento de diabetes y de enfermedades renales, para lo cual se ha usado infusiones de hojas, ramas, y

² Botit.botany.wisc.edu/.../cecropiaceae/cecropia. Revisado el 29 de diciembre de 2004.

³ www.nybg.org/bsci/belize/cecropia.jpg. Revisado el 29 de diciembre de 2004.

raíces. Un estudio etnofarmacológico realizado en México, confirmó el uso de infusiones de la planta para tratar la diabetes tipo II (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001). También ha sido utilizada en casos de excesiva salivación y picaduras de alacrán y hormiga. Otras propiedades terapéuticas se relacionan con su efecto antitusígeno, antiinflamatorio y antidiarreico. En el Salvador, se han usado infusiones de hojas de esta planta como sedante y para el tratamiento de artritis y reumatismo. (Vidrio y García-Marquez, 1982).

La investigación científica con ratas de laboratorio, ha indicado que el extracto acuoso de *Cecropia* tiene propiedades antihipertensivas, administrándose por vía endovenosa, en dosis de 10, 30 mg/kg (Vidrio y García-Marquez, 1982) y 50 mg/kg (Salas y col. 1987). Sin embargo, administrándose por vía oral, durante cuatro semanas, en dosis de 20 mg/kg, no logró bajar la presión arterial. El efecto hipoglicémico se ha demostrado en ratas y conejos, en dosis de 150 y 528 mg/kg respectivamente (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001). Se ha generado un leve efecto diurético, en dosis de 500 mg/kg, administrándose por vía oral, sin disminución de la osmolaridad, ni de las concentraciones de sodio y potasio en la orina. (Vargas y Montero, 1996). Se ha demostrado su efecto antiinflamatorio tópico y sistémico, sugiriendo que el mecanismo de acción, es a través de la interferencia de los mediadores de la inflamación: histamina y prostaglandina (Pérez – Guerrero y col., 2001).

Según Pérez - Guerrero y col. (2001), la dosis letal media del extracto de *Cecropia obtusifolia* corresponde a 1450 ± 70 mg/kg, administrada por vía intraperitoneal. Sin embargo otro estudio, utilizando una dosis de 1000 mg/kg, administrada por la misma vía, provocó la muerte de todos los animales tratados (Vargas y Montero, 1996). Un estudio de genotoxicidad de extracto de *Cecropia peltata* determinó que no tiene efecto citotóxico, al ser administrado por vía oral en dosis de 2000 mg/kg (Montero y col., 2001). Con respecto a su efecto sobre el sistema nervioso, un estudio realizado en ratas, concluyó que el extracto acuoso de *Cecropia obtusifolia*, generó un marcado efecto depresor del sistema nervioso central, en dosis de 100 y 250 mg/kg, además de un efecto analgésico y relajante muscular (Pérez – Guerrero y col., 2001).

3.3. ANSIEDAD.

De las múltiples dolencias que afectan al ser humano, son particularmente importantes las que alteran la salud mental, entendida por tal a la capacidad de las personas de interactuar entre sí, y con el medio ambiente, de manera de promover una condición subjetiva de bienestar, el desarrollo y uso óptimo de las potencialidades psicológicas, cognitivas, afectivas y relacionales, y el logro de metas individuales y colectivas compatibles con la justicia y el bien común⁴.

El malestar mental resulta del conflicto entre los factores individuales y grupales en interacción con el medio ambiente, produciendo malestar subjetivo, daño o discapacidad en el uso de las potencialidades psicológicas, incapacidad de lograr metas y conductas destructivas⁴.

⁴ www.who.int. Revisado el 9 de mayo de 2004

Existen diversos trastornos que pueden afectar la salud mental, dentro de los cuales, se encuentra la ansiedad. Esta puede ser una emoción normal o un trastorno psiquiátrico, dependiendo de su intensidad y de su repercusión sobre la actividad de la persona. En condiciones normales constituye uno de los impulsos vitales que motiva al individuo a realizar sus funciones y a enfrentarse a situaciones nuevas. En términos patológicos, puede describirse como la vivencia de un sentimiento de amenaza, de expectación tensa ante el futuro y de alteración del equilibrio psicosomático en ausencia de un peligro real o, por lo menos, desproporcionada en relación con el estímulo desencadenante (Hurlé, 1997).

Según Hurlé (1997), en este cuadro coexisten varios componentes:

- a) un sentimiento penetrante de aprensión, temor o angustia, frente a algo que se valora como amenazante,
- b) un estado de irritabilidad que se puede llegar a la pérdida de la capacidad de concentración y
- c) un conjunto de síntomas somáticos variables: sudoración, palpitaciones, opresión precordial, fatiga, micciones frecuentes, cefalea, mialgias, insomnio y molestias digestivas.

Es importante conocer como se manifiesta la ansiedad en los animales, debido a que éstos son utilizados en los modelos etológicos del presente estudio.

En los animales la existencia de ansiedad, es un motivo de discusión lo que lleva a muchos autores a definir estados de miedo, clasificándolos como agudo, subagudo y crónico. Este último, sería equivalente al estado de ansiedad en los seres humanos. Por lo tanto, es posible decir, que un animal se encuentra en un estado de ansiedad, cuando está esperando una sensación no placentera, esperando la repetición del estímulo que le es desagradable (Hamon, 1994).

El animal puede expresar la ansiedad esencialmente por dos vías diferentes; una de ellas es la actividad incesante y la otra se presenta como inmovilidad. En esta dualidad de presentación se encuentra la dificultad de decidir cual de estos aspectos corresponde a la ansiedad más profunda, sin embargo, se dan variaciones individuales dentro de cada especie. En ratas el patrón predominante para evidenciar ansiedad es la inmovilidad. Esto corresponde a una respuesta específica de temor frente a un depredador, en la que adoptan una posición que le permita mantenerse lo más desapercibido posible. (Pascual y col., 2003).

En relación al tratamiento de la ansiedad, en los últimos cuarenta años, las benzodiazepinas son los fármacos más utilizados. (Rocha y col., 2002). En humanos, los efectos más destacados se ejercen sobre el sistema nervioso central y se caracterizan por reducción de la ansiedad y de la agresividad, sedación e inducción del sueño, relajación muscular y pérdida de coordinación motora, además de un efecto anticonvulsivante; y en los animales, inducen un efecto de mansedumbre. En consecuencia, modifican el comportamiento en el hombre y en los animales (Hardman y Limbird, 2003).

Con respecto a la farmacodinámica de las benzodiazepinas, se sabe que existen receptores que modulan el ácido gamma amino butírico (GABA), potenciando su acción inhibitoria sobre el sistema nervioso central. En el año 1977, dos grupos de trabajos: Squires y Bastrup; Mohler y Okada, descubrieron receptores específicos para las benzodiazepinas. Actualmente se sabe que el complejo GABA está compuesto por 3 o 4 lugares de reconocimiento diferentes: el receptor GABA, el receptor benzodiazepínico, un receptor para barbitúricos y picrotoxinas y un canal de cloro (Vallejo y Gastó, 2000). Para el tratamiento de la ansiedad se han recomendado nueve derivados de la benzodiazepina: clodiazepóxido, diazepam, oxazepam, clorazepam, lorazepam, prazepam, alprazolam, halazepam y clonazepam. (Hardman y Limbird, 2003).

Al igual que la mayoría de los agentes psicotrópicos, las benzodiazepinas producen efectos secundarios que pueden no estar relacionados con sus efectos terapéuticos (Hardman y Limbird, 2003). El Comité de Control de Medicamentos de Gran Bretaña, distingue dos problemas principales con respecto a las terapias con las benzodiazepinas: adicción y síndrome de abstinencia o supresión. Respecto al primero, confirma que su potencial adicción es muy baja. Por el contrario, el número de personas con posibles cuadros de abstinencia es elevado, siempre en relación a la suspensión brusca del fármaco, incluso en tratamientos cortos (Vallejo y Gastó, 2000). Otras reacciones adversas que se describen son sedación, somnolencia, ataxia, disartria, amnesia anterógrada e incapacidad de coordinar movimientos finos o de generar una respuesta verbal o motora, frente a estímulos que requieran de una respuesta rápida (RIVAPLAMED, 1996).

Debido a la existencia de estos efectos secundarios, ha aumentado el interés por los extractos de plantas utilizadas en medicina popular, como una forma de conseguir nuevos compuestos ansiolíticos o sedativos con menos efectos indeseables que los fármacos ya conocidos, y en lo posible más potentes (RIVAPLAMED, 1998).

3.4. MODELOS EXPERIMENTALES.

Las pruebas que se realizaron para evaluar el extracto de *Cecropia sp.* fueron: Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño Inducido por Pentobarbital Sódico.

La prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico permite realizar estudios de comportamiento, valorando la acción depresora del sistema nervioso central de algunos animales sometidos a tratamientos con ciertas sustancias (RIVAPLAMED, 1998).

Esta prueba está basada en un modelo propuesto por Pellow y col. (1985) y modificado por Ruarte y col (1997) para ser usado en ratas. Consiste en una estructura de madera ubicada a 80 cm. del suelo, que consta de cuatro brazos formando una cruz, los cuales se juntan en el centro a la plataforma central. Los brazos tienen diferentes características (cerrado simétrico, cerrado asimétrico, 1 pared y abierto), de tal manera, que ofrecen un estímulo graduado de ansiedad para la rata (Ruarte y col., 1999)

Según Pascual y col. (2003), esta prueba conductual posee los tres tipos de validez necesarios para que un modelo animal logre su cometido satisfactoriamente:

1. Tiene validez predictiva, ya que la administración de ansiolíticos no sólo incrementa la probabilidad de que el animal se aventure a explorar los brazos abiertos del laberinto, sino que además contribuye a que éste permanezca en ellos por un tiempo mayor.
2. Presenta una importante validez aparente, ya que la aversión para explorar espacios abiertos mostrada por los animales aislados es similar a algunos tipos de trastornos de ansiedad.
3. Posee validez de constructo, puesto que el sustrato biológico que media los estados de ansiedad es similar para todos los mamíferos, tanto a nivel de sistemas córtico-subcorticales como neuroendocrinos.

Además, su validez se sustenta en que sólo los fármacos ansiolíticos mejoran la frecuencia de ingresos y tiempo de permanencia en los brazos abiertos, en tanto que no se producen cambios conductuales significativos al administrar otros psicofármacos, como por ejemplo, antidepresivos y neurolepticos (Pascual y col., 2003).

Las ventajas de este modelo etológico de estudio, además del costo y facilidad de implementación, son el empleo de estímulos de tipo natural y no requieren de entrenamiento de los animales (Dawson y Tricklebank, 1985; RIVAPLAMED, 1998).

Dentro de las desventajas, se encuentra la posibilidad de confundir los efectos ansiolíticos y ansiogénicos por cambios de la actividad motora (Ruarte y col., 1997). No permite investigar la administración crónica de un fármaco, debido al hábito exploratorio que desarrolla en los animales, lo que no hace posible su reutilización (Dawson y Tricklebank, 1985).

La prueba de Tiempo de Sueño Inducido requiere el uso de un fármaco, como por ejemplo, del grupo de los barbitúricos. Uno de los barbitúricos de uso más frecuente en la elaboración de esta prueba biológica, es Pentobarbital Sódico. La administración paralela de la sustancia con acción sobre el sistema nervioso central, potenciará o disminuirá la hipnosis o narcosis inducida por él mismo (Guillemain y Tetau, 1980).

El Pentobarbital Sódico se utiliza en dosis hipnótica (15 mg/Kg), la cual es menor que la utilizada para inducir anestesia en ratas (30 – 40 mg/Kg) (Muir y col., 2001).

3.5. HIPOTESIS.

En relación a los antecedentes previamente descritos, se planteó como hipótesis de trabajo que “el extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp* condiciona depresión del sistema nervioso central”.

3.6. OBJETIVOS.

1. Determinar el efecto del extracto de *Cecropia sp* sobre el sistema nervioso central de la rata, mediante el uso de las pruebas: Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño Inducido.
2. Aportar al conocimiento científico sobre plantas medicinales de América Latina

4. MATERIAL Y MÉTODOS.

4.1. MATERIAL.

4.1.1. Material Biológico:

Se utilizaron 45 ratas, machos, cepa Sprague-Dawley, con un peso aproximado entre 180 y 220 g, procedentes del Bioterio de Animales de Experimentación del Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile.

4.1.2. Material Farmacológico:

- Pentobarbital Sódico⁵ (solución al 0,15%, en dosis de 15 mg/kg)
- Diazepam⁶ (solución al 0,02%, en dosis de 1 mg/kg)
- Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp.*⁷ (Solución acuosa al 2%, en dosis de 100 mg/kg).
- Solución de agua destilada.

El lugar de recolección de la planta fue en Alto el Guamo, Manizales, Colombia, con fecha de 15 de julio de 2003.

4.1.3. Material de laboratorio:

- Balanza electrónica, con un margen de error equivalente a +/- 0,1 g.
- Lápices de tinta indeleble.
- Jaulas colectivas.
- Jeringas rotuladas de 3 ml.
- Sondas Bucoesofágicas de polietileno.
- Aguja 26G½.
- Cronómetro.
- Alcohol etílico absoluto 96%.
- Toalla de papel absorbente.
- Cámara de video

⁵ Nembutal, Laboratorio Sigma.

⁶ Diazepam. Laboratorio Chile.

⁷ Otorgado por el Dr. Mario F. Guerrero P. Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia

4.1.4. Material de experimentación:

- **Caja porta - rata** (foto 3): es una caja de plástico con tapa de alambre y dos manillas de 29 cm. de ancho, de 36 cm. de largo y 20 cm. de alto, donde las ratas se mantuvieron durante el período de latencia.



Foto 3: Caja porta – rata

- **Mesa metálica:** es una mesa de 40 cm. de ancho, 109 cm. de largo y 67 cm. de alto, la que fue cerrada con paredes de cartón de 25 cm de alto. Se utilizó para la administración de las soluciones farmacológicas y para la observación del animal durante la prueba de Tiempo de Sueño Inducido.
- **Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico** (Figura 1): es una estructura de madera ubicada a 80 cm. del suelo, consta de cuatro brazos formando una cruz, con una superficie lavable de color negro. Los brazos miden 40 cm. de largo y 10 cm. de ancho, y la plataforma central es un cuadrado de 20 cm. de lado. Las características de cada brazo, según (Ruarte y col., 1999), son las siguientes:
 - Plataforma central (20 x 20 cm.)
 - Zona 1: Brazo abierto.
 - Zona 2: Brazo cerrado de dos paredes simétricas (15 cm. de altura).
 - Zona 3: Brazo cerrado de dos paredes asimétricas (15 y 6 cm. de altura).
 - Zona 4: Brazo con una pared (15 cm. de altura).

La iluminación del laberinto en cruz elevado asimétrico, se realizó con una lámpara fluorescente de 30 W (Ruarte y col. 1997)

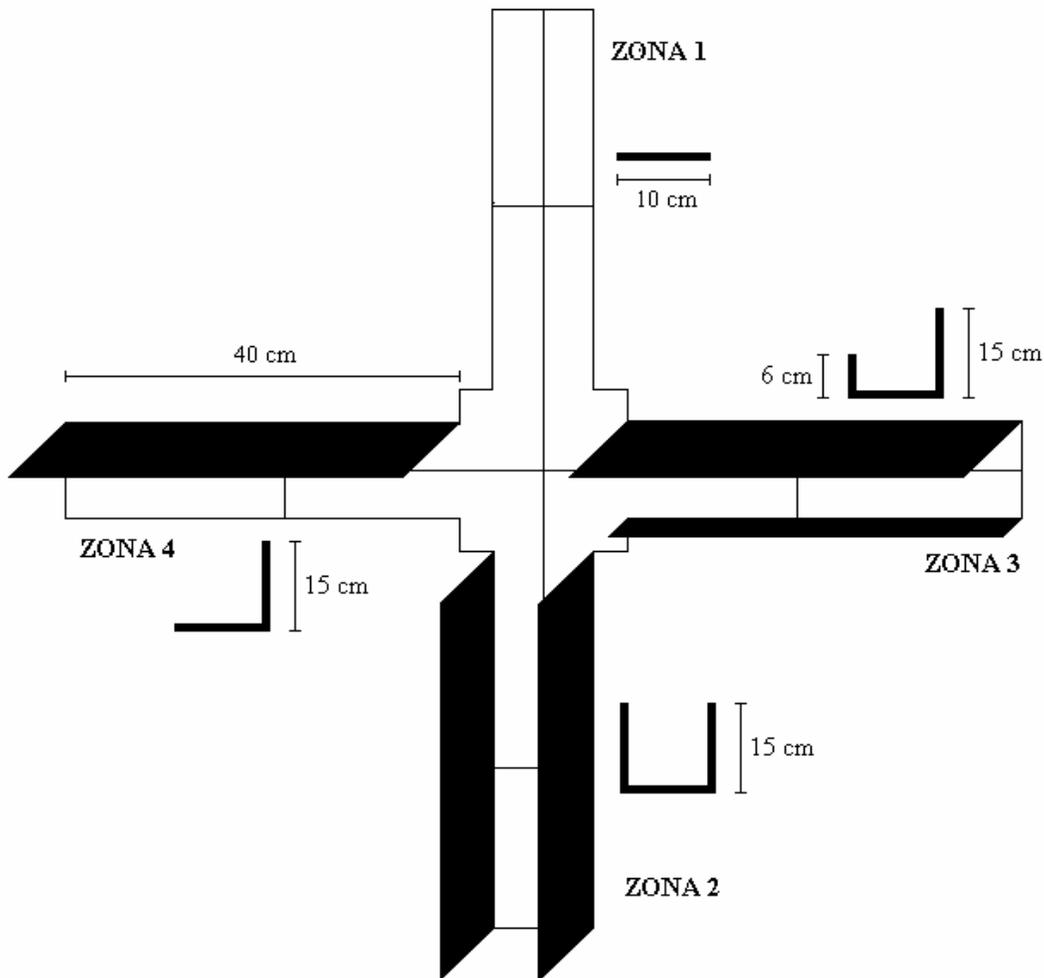


Figura 1: Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico

4.1.5. Condiciones de trabajo:

- **Manipulación y alimentación:** Los animales se mantuvieron en jaulas colectivas en una sala del Bioterio para evitar situaciones estresantes que pudiesen generar temor y afectar su comportamiento. La alimentación consistió en pelet estándar para ratas y agua de bebida, esta última *ad libitum*. El día previo a las pruebas de observación, fueron separadas de su respectivo grupo y depositadas en una jaula previamente asignada.

- **Condiciones ambientales:** se mantuvieron ciclos alternados de luz/oscuridad de 12 horas cada uno, (ciclo luz 8: 00 AM a 20:00 horas PM). La temperatura se mantuvo entre 18 y 22°C, no existiendo olores, ni ruidos extraños que pudieran alterar la conducta.
- **Momento de medición:** las observaciones se realizaron siempre en la tarde, entre las 14:00 y 18:00 hrs., con la finalidad de reducir el efecto de la hora del día sobre la conducta debido a que los roedores al ser animales nocturnos, presentan gran actividad durante la mañana y al final de la tarde (RIVAPLAMED, 1996).
- **Animales:** se utilizaron ratas machos para evitar la influencia de los ciclos estrales sobre el comportamiento de las hembras. Las ratas no fueron sometidas a ningún tipo de estrés físico.
- **Ayuno:** se estableció un período de ayuno de 24 hrs. Con la finalidad de evitar que los alimentos ingeridos interfieran en la biodisponibilidad de los fármacos administrados.
- **Volumen a administrar:** 0,5 ml por cada 100 g de peso vivo de las ratas.

4.2. MÉTODOS.

4.2.1. Diseño Experimental:

Todos los animales fueron filiados con un número correlativo puesto en la base de la cola, posteriormente se asignaron al azar empleando un sistema de sorteo simple, formando 3 grupos de 15 ratas cada uno, cuya distribución fue la siguiente:

- **Grupo 1:** control negativo, con agua destilada.
- **Grupo 2:** control positivo, con Diazepam, en dosis de 1 mg/kg.
- **Grupo 3:** testigo, con extracto de *Cecropia sp*, en dosis de 100mg/kg .

Las soluciones se administraron por vía oral, a través de sonda bucoesofágica.

Una vez administrado el tratamiento, se ubicaron los animales en la caja porta - rata durante 45 minutos, tiempo que fue establecido como período de latencia para la absorción de la solución administrada. Transcurrido este lapso se realizaron las pruebas de comportamiento en forma individual. La primera prueba realizada, fue la observación, durante 5 minutos, en el Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, registrándose las variables estipuladas en la pauta de observación programada (Anexo 4). Una vez realizada esta prueba se administró Pentobarbital Sódico en dosis de 15 mg/kg, por vía intraperitoneal, dando inicio a la prueba de Tiempo de Sueño Inducido, registrándose el tiempo de cada variable en medición.

Los animales no fueron reutilizados para evitar la tolerancia farmacodinámica y farmacocinética (Hardman y Limbird, 2003). Una vez concluidas las pruebas, se efectuó la

eutanasia de los animales, aplicando una sobredosis de Pentobarbital Sódico (80 mg/kg) por vía intraperitoneal. Con el fin de mantener constante las condiciones experimentales, la superficie del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, fue limpiada prolijamente con alcohol y toalla de papel absorbente después de realizar los experimentos con cada animal.

4.2.2. Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico:

Se midieron las siguientes variables, registrándose el tiempo en minutos:

- El tiempo de permanencia en la plataforma central.
- El número de entradas y el tiempo de permanencia en el brazo abierto (Zona 1).
- El número de entradas y el tiempo de permanencia en el brazo cerrado de dos paredes simétricas (Zona 2).
- El número de entradas y el tiempo de permanencia en el brazo cerrado de dos paredes asimétricas (Zona 3).
- El número de entradas y el tiempo de permanencia en el brazo con una pared (Zona 4).

4.2.3. Prueba de Tiempo de Sueño Inducido por Pentobarbital Sódico:

Se midieron las siguientes variables, registrándose el tiempo en minutos:

- **Período de Latencia para Hipnosis:** Se registró el tiempo transcurrido desde la administración de Pentobarbital Sódico por vía intraperitoneal, hasta que la rata dejó de deambular y apoyó toda su región ventral, incluyendo el mentón, sobre la mesa de observación.
- **Duración de Hipnosis:** se registró el tiempo transcurrido desde que la rata dejó de deambular y apoyó toda su región ventral, incluyendo el mentón, sobre la mesa de observación, hasta que perdió el reflejo de enderezamiento.
- **Duración de Narcosis:** se registró el tiempo transcurrido desde que la rata perdió el reflejo de enderezamiento, hasta que lo recuperó.
- **Duración de Depresión Total:** Se registró el tiempo transcurrido desde que la rata dejó de deambular y apoyó toda su región ventral, incluyendo el mentón, sobre la mesa de observación, hasta que se recuperó totalmente y volvió a deambular.

4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos obtenidos en ambas pruebas realizadas fueron procesados mediante el paquete estadístico “GraphPad Prism TM” versión 4.0 y se utilizó una planilla de cálculo Excel. Los resultados obtenidos se expresaron como medias aritméticas y su error estándar.

Se utilizó como nivel de significancia 0,05 siendo significativo un $p \leq 0,05$ y no significativo un $p > 0,05$ (Naranjo y Bustos, 1992). Además se realizaron pruebas inferenciales intergrupos, paramétricas y no paramétricas. La metodología estadística aplicada en el análisis de los valores obtenidos fue la siguiente:

- Al cumplirse los resultados de normalidad y homocedasticidad se recurrió al análisis de varianza paramétrico (Anova) de una vía, cuyo objetivo fue comparar promedios de dos o más grupos de datos (Domenech, 1980).
- Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, usando en los casos en el que Anova paramétrico resultó significativo (Zar, 1974).
- Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal – Wallis, que fue utilizado en casos de no cumplirse los requisitos de normalidad y/o homocedasticidad de los datos (Siegel, 1996).
- Prueba de comparaciones múltiples no paramétrico de Dunn, esta prueba fue aplicada en los casos en el que la prueba de Kruskal-Wallis resultó significativa (Hollander y Wolfe, 1973).
- Se utilizó la prueba t de Student de datos pareados, para realizar las comparaciones intergrupo de las variables.

5. RESULTADOS.

5.1. LABERINTO EN CRUZ ELEVADO ASIMÉTRICO (LCEA).

5.1.1. Tiempo de permanencia en plataforma central:

El análisis de los resultados de tiempo de permanencia, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre el grupo Control y Diazepam (Gráfico1) (Anexo 2).

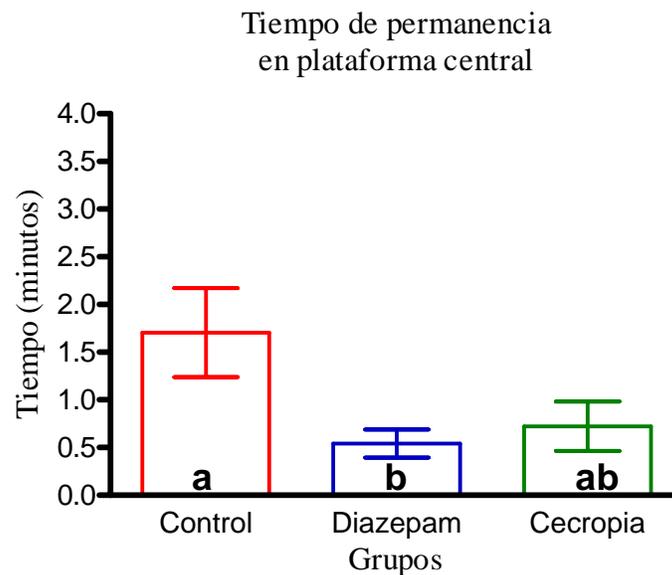


Gráfico 1: Tiempo de permanencia en la plataforma central del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*.. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.1.2. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo abierto (zona 1):

El análisis de los resultados de número de entradas, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos en estudio (Gráfico 2) (Anexo 1).

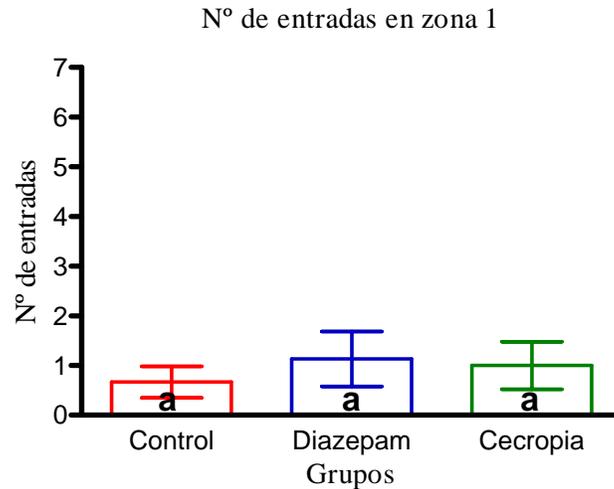


Gráfico 2: Número de entradas en el brazo abierto (zona 1) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

El análisis de los resultados de tiempo de permanencia, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos en estudio (Gráfico 3) (Anexo 2).

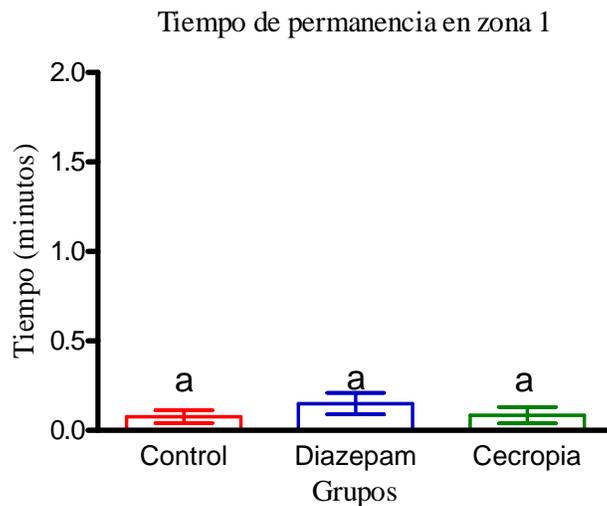


Gráfico 3: Tiempo de permanencia en el brazo abierto (zona 1) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.1.3. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo cerrado de paredes simétricas (zona 2):

El análisis de los resultados de número de entradas, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos en estudio (Gráfico 4) (Anexo 1).

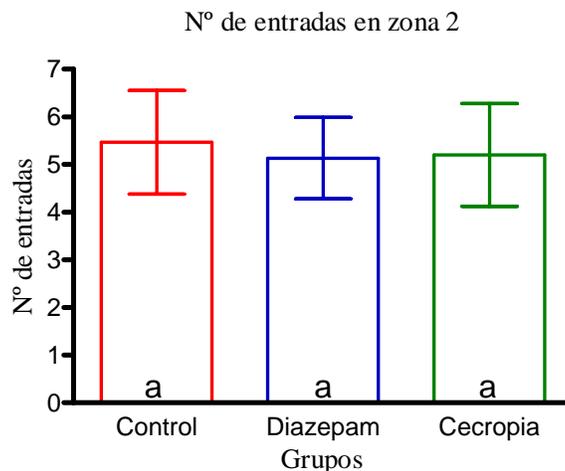


Gráfico 4: Número de entradas en el brazo cerrado de paredes simétricas (zona 2) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

El análisis de los resultados de tiempo de permanencia, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos en estudio (Gráfico 5) (Anexo 2).

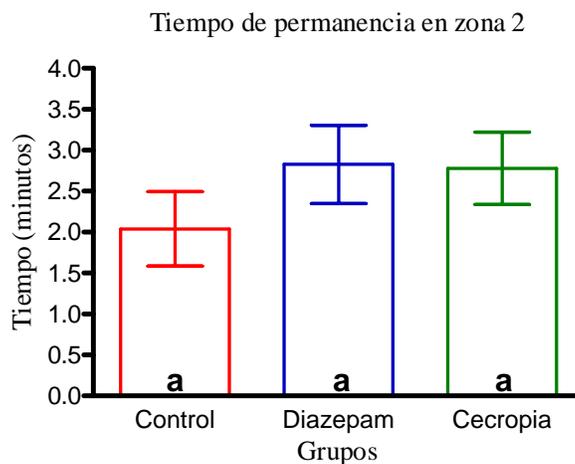


Gráfico 5: Tiempo de permanencia en el brazo de paredes simétricas (zona 2) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.1.4. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo cerrado de paredes asimétricas (zona 3).

El análisis de los resultados de número de entradas, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre los grupos en estudio (Gráfico 6) (Anexo 1).

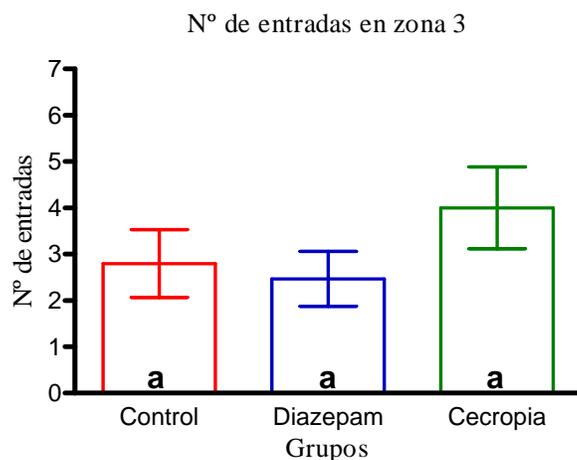


Gráfico 6: Número de entradas en el brazo cerrado de paredes asimétricas (zona 3) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*,. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

El análisis de los resultados de tiempo de permanencia, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre los grupos en estudio (Gráfico 7) (Anexo 2).

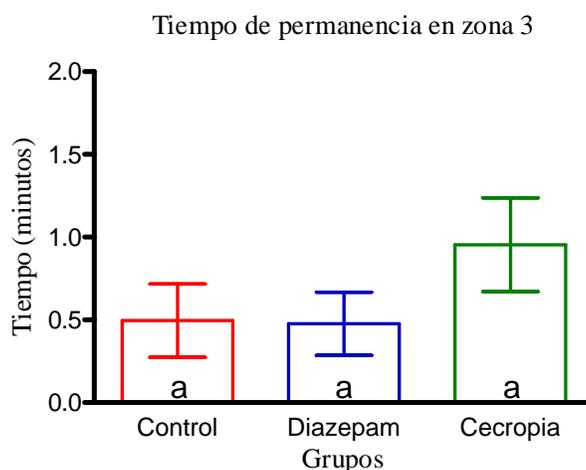


Gráfico 7: Tiempo de permanencia en el brazo de paredes asimétricas (zona 3) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*,. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.1.5. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo de una pared (zona 4):

El análisis de los resultados de número de entradas, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos Control y Diazepam (Gráfico 8) (Anexo 1).

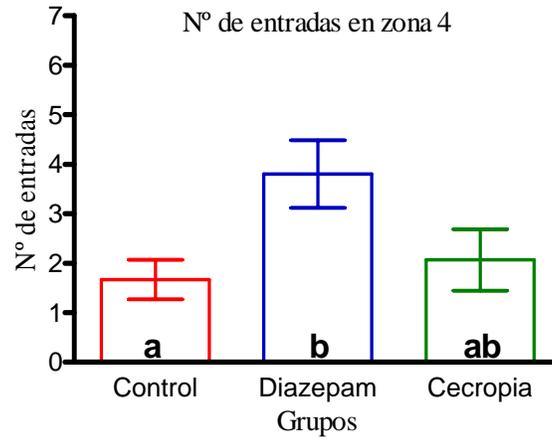


Gráfico 8: Número de entradas en el brazo de una pared (zona 4) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

El análisis de los resultados de tiempo de permanencia, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos Control y Diazepam (Gráfico 9) (Anexo 2).

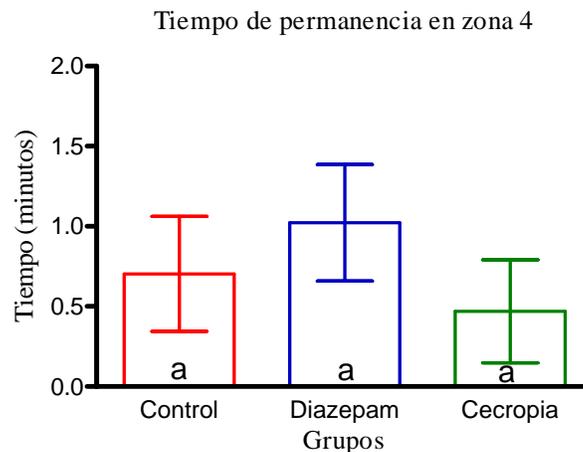


Gráfico 9: Tiempo de permanencia en el brazo de una pared (zona 4) del LCEA, de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.2. PRUEBA DE TIEMPO DE SUEÑO INDUCIDO POR PENTOBARBITAL SODICO.

5.2.1. Período de Latencia para Hipnosis:

El análisis de los resultados de esta variable, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre los grupos Control y Diazepam (Gráfico 10) (Anexo 3).

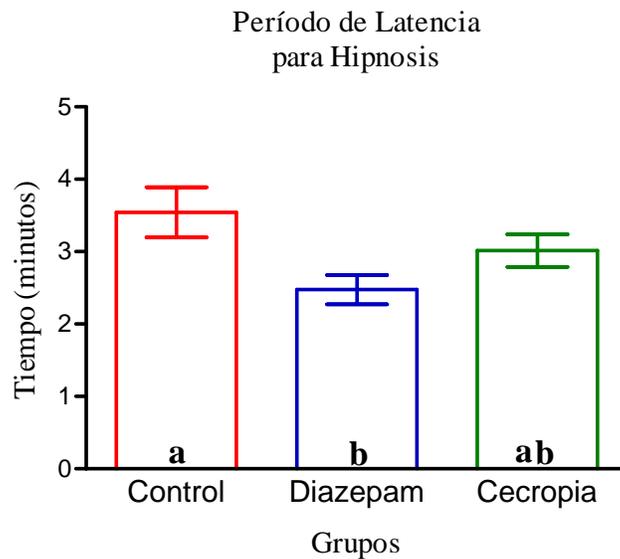


Gráfico 10: Período de Latencia para Hipnosis de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados en minutos, como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.2.2. Duración de Hipnosis:

El análisis de los resultados de esta variable, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre el grupo *Cecropia*, y los grupos Control y Diazepam (Gráfico 11) (Anexo 3).

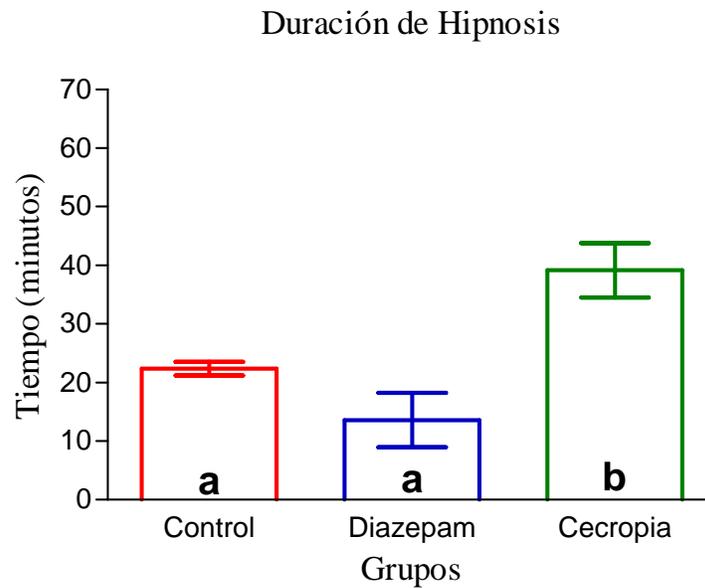


Gráfico 11: Duración de Hipnosis de las ratas de los grupo Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados en minutos, como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.2.3. Duración de Narcosis:

El análisis de los resultados de esta variable, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre el grupo Diazepam y *Cecropia* (Gráfico 12) (Anexo3).

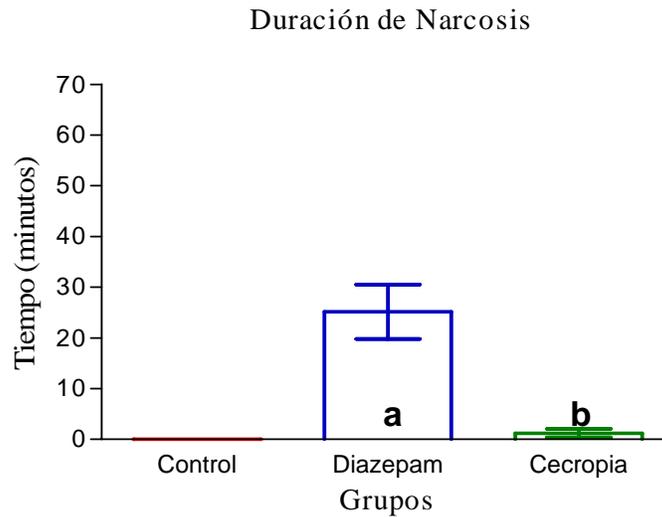


Gráfico 12: Duración de Narcosis de las ratas pertenecientes a los grupo Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados en minutos, como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.2.3. Duración de Depresión Total:

El análisis de los resultados de esta variable, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre el grupo Control y los grupos Diazepam y *Cecropia* (Gráfico 13) (Anexo 3).

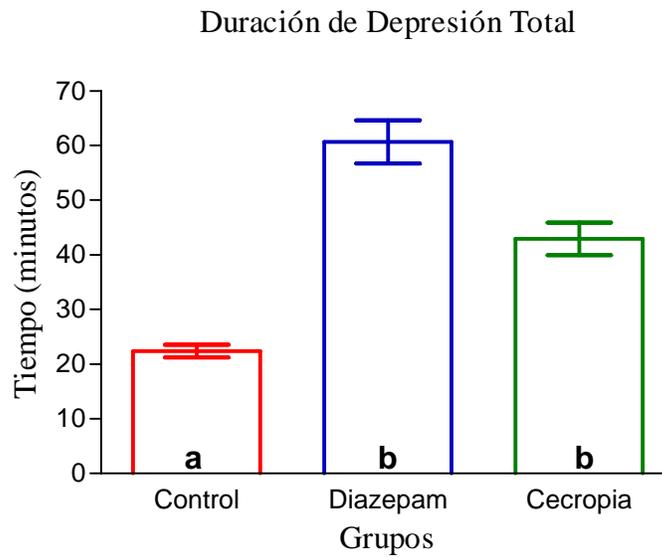


Gráfico 13: Duración de Depresión Total de las ratas de los grupo Control, Diazepam y *Cecropia*. Resultados expresados en minutos, como medias aritméticas \pm E.E.*

* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

6. DISCUSIÓN.

6.1. PRUEBA DE LABERINTO EN CRUZ ELEVADO ASIMÉTRICO (LCEA).

6.1.1. Tiempo de permanencia en la plataforma central:

El tiempo de permanencia en la plataforma central, es considerado como un tiempo en que la rata se encuentra en una zona de conflicto, donde toma la decisión de dirigirse a uno de los cuatro brazos (RIVAPLAMED, 1998).

El grupo Control presentó valores mayores que el grupo Diazepam, existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre ellos. Esto significa que el grupo Control presentó un comportamiento de mayor ansiedad con respecto al grupo Diazepam. Lo cual coincide con lo descrito por Rocha y col. (2002).

Los resultados del grupo *Cecropia* fueron menores que el grupo Control, sin embargo, no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

6.1.2. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo abierto (zona 1):

Las ratas evitan ingresar a este brazo por la sensación de miedo que les provoca (Ruarte y col., 1999). Esta sensación está condicionada por dos factores. El primero, es la luminosidad, ya que las ratas sienten rechazo por los lugares iluminados. El otro factor es la ausencia de paredes, que no les permite realizar tigmotaxis. El aumento del número de entradas y tiempo de permanencia en este brazo, es un claro indicador de menor ansiedad por parte de las ratas (Ruarte y col. 1999).

El análisis intergrupo de los resultados de ambas variables no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Lo cual difiere parcialmente, con lo expuesto por Rocha y col. (1999), donde Diazepam aumentó significativamente el número de entradas en relación con el grupo Control.

Los resultados obtenidos del grupo *Cecropia*, indican que no tiene efecto ansiolítico, ya que, en comparación al grupo control, no aumentó el número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo abierto.

6.1.3. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo cerrado de dos paredes simétricas (zona 2):

El número de entradas en esta zona, es un factor relacionado con la exploración del espacio por parte del animal, y es importante que sea registrado, con el objeto de considerar el número total de entradas como un indicador de actividad locomotora (RIVAPLAMED, 1998). Los resultados obtenidos en este estudio, reflejan que la actividad locomotora del grupo

Diazepam y *Cecropia*, no se vio afectado, ya que las ratas de estos grupos ingresaron similar número de veces que el grupo Control.

El tiempo de permanencia en este brazo, según Rocha y col. (2002), es alto, debido a que los brazos cerrados les proporcionan una mayor protección a las ratas. Lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio, ya que todos los grupos permanecieron mayormente en este brazo. El análisis intergrupo de los resultados de esta variable, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

6.1.4. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo cerrado de dos paredes asimétricas (zona 3):

Según Ruarte y col. (1999), se presenta una alta exploración y permanencia en esta zona, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio. El número de entradas en esta zona es un indicador de actividad locomotora por parte de las ratas (RIVAPLAMED, 1998), el cual no se vio afectado, ya que las ratas del grupo Diazepam y *Cecropia* ingresaron similar número de veces que el grupo Control, no presentando diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

El tiempo de permanencia en este brazo fue similar para los tres grupos, ya que no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

6.1.5. Número de entradas y tiempo de permanencia en el brazo de una pared (zona 4):

Según Rocha y col. (1999), el número de entradas y el tiempo de permanencia en esta zona, es mayor para el grupo Diazepam en comparación al grupo Control, debido a sus propiedades ansiolíticas. Lo cual coincide, parcialmente, con los resultados obtenidos en este estudio, ya que, a pesar de que el grupo Diazepam presentó los valores más altos en ambas variables, solo fueron estadísticamente significativos ($p \leq 0,05$) para la variable número de entradas.

Aunque el grupo *Cecropia*, en la variable número de entradas, presentó valores más altos que el grupo Control, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), indicando que no posee propiedades ansiolíticas.

6.2. PRUEBA DE TIEMPO DE SUEÑO INDUCIDO POR PENTOBARBITAL SÓDICO.

6.2.1. Período de Latencia para Hipnosis:

El grupo Diazepam, presentó el menor tiempo de los tres grupos ($2,5 \pm 0,2$), existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) con respecto al grupo Control ($3,5 \pm 0,35$), situación explicable, debido a que Diazepam estaría potenciando el efecto de Pentobarbital Sódico, por ser un fármaco de conocido efecto depresor del sistema nervioso central, a través de la inhibición de los reflejos polisinápticos de la médula espinal e induciendo una miorelajación de tipo central (Hardman y Limbird, 2003).

El grupo *Cecropia* presentó un menor tiempo que el grupo Control, sin embargo, no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

6.2.2. Duración de Hipnosis:

El grupo Diazepam, presentó el menor tiempo de duración de hipnosis de todos los grupos en estudio, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$). Lo cual coincide con los resultados obtenidos por Gallegos (1995), Hauck (1995), Ruiz (2000) y Ahumada (2000). Esta respuesta es atribuible al sinergismo de este fármaco sobre el efecto depresor del sistema nervioso central del Pentobarbital sódico, que llevó a las ratas rápidamente a un estado de narcosis, con un período de hipnosis muy breve (Hardman y Limbird, 2003)

El grupo *Cecropia* presentó el mayor tiempo en esta variable ($39 \pm 4,6$), presentando diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) con el grupo Control ($22 \pm 1,2$) y Diazepam ($14 \pm 4,6$). Con esto se demuestra que se generó un sinergismo con el Pentobarbital Sódico, potenciando su efecto depresor sobre el sistema nervioso central (Hardman y Limbird, 2003). La Literatura consultada no entrega información sobre esta variable para el extracto estudiado.

6.2.3. Duración de Narcosis:

Las ratas del grupo Control no entraron en narcosis, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Ruiz (2000) y Ahumada (2000).

El tiempo que duró este período fue mayor para el grupo Diazepam ($25 \pm 5,4$), lo que coincide con los resultados obtenidos por Gallegos (1995) y Hauck (1995). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) con el grupo *Cecropia* ($1,2 \pm 0,85$), lo que significa que el sinergismo demostrado, para el grupo *Cecropia*, en la duración de hipnosis, no fue tan potente como para generar un estado de narcosis, como el mostrado por Diazepam.

6.2.4. Duración de Depresión Total:

El tiempo que duró este período fue menor para el grupo Control ($22 \pm 1,2$), presentando diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) con el grupo Diazepam (61 ± 4) y *Cecropia* (43 ± 3). Lo que significa, que tanto el grupo Diazepam como *Cecropia* sinergizaron el efecto depresor de Pentobarbital Sódico sobre el sistema nervioso central.

Aunque el tiempo del grupo Diazepam fue mayor que *Cecropia*, no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), sugiriendo que la duración del efecto depresor del sistema nervioso central, es similar para ambos grupos.

Si bien, se desconoce el mecanismo exacto mediante el cual el extracto de *Cecropia* ejerce su efecto depresor del sistema nervioso central, es posible que actúe a nivel del sistema serotoninérgico, aumentando los niveles de 5 HT (serotonina) en el hipocampo. Otra alternativa posible, es que actúe bloqueando los canales de calcio a nivel del sistema nervioso central (Rocha y col., 2002).

6.3. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos en las pruebas realizadas con ratas machos Sprague Dawley, en el presente trabajo, es posible concluir que el extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp.* administrado por vía oral, en dosis única de 100 mg/kg:

- No tiene efecto ansiolítico, según la prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico (LCEA).
- Condiciona depresión del sistema nervioso central, según la prueba de Tiempo de Sueño Inducido por Pentobarbital Sódico. Siendo este efecto menos potente que Diazepam.

En relación a los resultados obtenidos en este estudio y considerando, la dosis y vía de administración, se valida la hipótesis de este trabajo: “El extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp.*, condiciona depresión del sistema nervioso central”.

7. BIBLIOGRAFÍA.

- AHUMADA, A.** 2000. Efecto de la administración del extracto de *Hypericum perforatum* sobre la conducta de ratas, en la prueba de campo abierto con agujeros y tiempo de sueño inducido por Pentobarbital Sódico. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ANDRADE-CETTO, A., H. WIEDENFELD.** 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 78: 145-149..
- BOOTH, N., L McDONALD.** 1988. Farmacología y terapéutica veterinaria. Vol. 1, Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- BRIONES, F.** 1990. Manual de Medicina Veterinaria Homeopática. Editorial Hochstetter Ltda., Santiago, Chile.
- CETAL, CENTRO DE ESTUDIOS EN TECNOLOGÍAS APROPIADAS PARA AMERICA LATINA.** 1993. Plantas medicinales, cuadernos populares 5^a ed., N°7, Editorial CETAL, Valparaíso. Chile.
- DAWSON, G., M. TRICLEBANK.** 1985. Use of the Elevated Plus Maze in the search for the novel anxiolytic agents. *Trends in Pharmacol. Sci.* 16: 33-36.
- DOMENECH, J.M.** 1980. Bioestadística. 3^a ed., Editorial Herder, Barcelona, España.
- FARGA, C., J. LASTRA, A. HOFFMAN.** 1988. Plantas Medicinales de uso común en Chile. Tomo II, 2^a ed., Paesmi, Santiago, Chile.
- GALLEGOS, X.** 1995. Efectos de los extractos de *Avena sativa*, *Escholtzia californica* y *Matricaria chamomilla* sobre el tiempo de narcosis condicionados por pertobarbital sódico en ratas. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

GUERRA, F., M. Del C. SANCHEZ. 1984. El libro de medicinas caseras de fray Blas de la Madre de Dios. Manila, 1611. Ediciones cultura hispánica, Madrid, España.

GUILLEMAIN, J. Et M. TETAU. 1980. Contribution á l' etude d' un trnquillisant végétal: tilia tomentosa bourgeons. *Cah. Biothérapie*, 72: 41-49.

HARDMAN, J., L. LIMBIRD. 2003. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Vol.1, Décima Ed., Editorial McGraw-Hill Interamericana, Ciudad de México, México.

HAMON, M. 1994. Neuropharmacology of anxiety. Perspectives and prospects. *Trends in Pharmacol. Sci.* 15: 36-39.

HAUCK, J. 1995. Efecto de la asociación de *Avena sativa*, *Escholtzia californica* y *Matricaria chamomilla* sobre el tiempo de narcosis condicionados por pertobarbital sódico en ratas. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

HOFFMAN, A., C. FARGA, J. LASTRA, E. VEGHAZI. 1992. Plantas medicinales de uso común en Chile. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago, Chile.

HOLLANDER, M., D. WOLFE. 1973. Non parametric Statistical Methods. 2nd ed., Jhon Wiley and Sons, New York, United States of America.

HURLÉ, M.A. 1997. Farmacología Humana. Editorial Masson, Barcelona. España.

LOBOVA, T. A., S. MORI, F. BLANCHARD, H. PECKHAM, P. CHARLES-DOMINIQUE. 2003. *Cecropia* as a food resourse for bats in French Guiana and the significance of fruit structure in seed dispersal and longetivy. *American Journal of Botanic.* 90(3): 388-403.

MAGALHAES, H. M. 1999. Farmacología Veterinaria. Livraria e Editora Agropecuárea Ltda., Guaíba, Brasil.

MATHEUS, M.G., F.S. GUIMARAES. 1997. Antagonism of non-NMDA receptors in the dorsal periaqueductual grey induces anxiolytic effect in the elevated plus maze. *Psychopharmacology.* 132(1): 14.18.

- MEDINA, E.** 1998. Perspectiva del Ministerio de Salud sobre Plantas Medicinales. Presentación al taller “Avances en la investigación de Plantas Medicinales”. XX Reunión anual de la Sociedad de Farmacología de Chile, Santiago, Chile.
- MONTERO, R., G., PEREZ, N. FERNANDEZ, A. BADA, M. ARTEAGA, A. MANCEBO.** 2001. Estudio genotóxico *in vivo* de 6 plantas medicinales en células de la médula osea de roedores. *Revista de toxicología*. 18: 75-78.
- MONTES, M. T., L. WILKOMIRSKY.** 1985. Medicina tradicional chilena. Editorial Universitaria de Concepción, Concepción, Chile.
- MONTES, M. T., L. WILKOMIRSKY, L. VALENZUELA.** 1992. Plantas Medicinales. Edición Universitaria de Concepción, Concepción, Chile.
- MORATO, S., M. BRANDAO.** 1997. Paradoxical increase of exploratory behavior in the elevated plus maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30(9): 1113-1120.
- MUIR, W., J. HUBBELL, R. SKARDA, R. BEDNARSKI.** 2001. Anestesia Veterinaria. 3ª Ed., Editorial Harcourt Madrid España.
- NARANJO, C., U. BUSTOS.** 1992. Métodos en farmacología clínica. Métodos de ensayos clínicos de medicamentos. Editorial OPS, Washington, Estados Unidos de América.
- PASCUAL, R., M. CATALAN, M. FUENTEALBA.** 2003. Rasgos de ansiedad y alteraciones neuronales en la corteza prefrontal medial, ocasionadas por experiencias adversas tempranas. *Rev. chil. neuro-psiquiatr.* vol.41:201-211.
- PELLOW, S., P. CHOPIN, S.E. FILE, M. BRILEY.** 1985. Validation of: closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods.* 14: 149 – 167.
- RIVAPLAMED, REDE IBEROAMERICANA de VALIDACAO de PLANATAS MEDICINAIS.** 1996. I Curso Iberoamericano de Validação de Plantas Mediciniais com actividade Sedativa/Tranquilizante. Universidad de Coimbra, Coimbra, Portugal.

- RIVAPLAMED, REDE IBEROAMERICANA de VALIDACAO de PLANATAS MEDICINAIS.** 1998. I Curso Iberoamericano de Validação de Plantas Mediciniais com actividade no Sistema Nervoso Central. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil.
- ROCHA, F.F., A.J. LAPA, T.C. M. DE LIMA.** 2002. Evaluation of the anxiolytic-like effects of *Cecropia glazioui* Sneth in Mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 71: 183 – 190.
- RUARTE, M.B., A.G. OROFINO, E.O. ALVAREZ.** 1997. Hippocampal histamine receptors and conflictive exploratio in the rat: studies using the elevated asymmetric pluz-maze. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30: 1451-1461.
- RUARTE, M.B., E.O. ALVAREZ.** 1999. Behavioral profiles displayed by rats in an elevated asymmetric plus-maze: effects of diazepam. *Braz. J. Med. Biol. Res* 32(1): 99-106.
- RUIZ, A.** 2000. Evaluación del efecto de la administración del extracto acuoso de *Allium ampeloprasum* en la conducta de ratas mediante la prueba de laberinto en cruz elevado y tiempo de sueño inducido por Pentobarbital Sódico. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- SALAS I., J. BRENES, O. MORALES.** 1987. Antihypertensive effect of *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) leaf extract on rats.
- SHARAPIN, N.** 2000. Fundamentos de Tecnologías de Productos Fitoterapéuticos. Publicación del CAB y CYTED, Bogotá, Colombia.
- SIEGEL, S.** 1996. Metodología de la investigación. Interamericana McGraw-Hill, Nueva York, Estados Unidos de América.
- SILVA, M. R., M. M. BERNARDI, A.G. NASELLO, L. F. FELICIO.** 1997. Influence of location on motor activity and elevated plus maze behavior *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30 (2): 241-244.
- VALLEJO, J., C. GASTÓ.** 2000. Trastornos afectivos: ansiedad y depresión. 2ª ed., Masson. Barcelona, España.

VARGAS, R., G. MONTERO. 1996. Actividad diurética de la *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) en ratas albinas. Rev. Biol. Trop. 44(1): 93-96.

VIDRIO, H., F. GARCÍA MARQUEZ. 1982. Hipotensive activity of *Cecropia*. *Journal of pharmaceutical sciences*. 71: 475-476.

VILLAR, A. M. 1996. Validación científica de las plantas medicinales en primera reunión de coordinación internacional. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo CYTED, Antigua, Guatemala. pp. 35-41.

ZAR, J. H. 1974. Biostatistical analysis. Prentice-Hall inc. Englewoods Cliffs, New York, United States of América.

8. ANEXOS

ANEXO 1: Tabla 1. Valores de la variable Número de Entradas en las diferentes zonas del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico (LCEA), expresados como medias aritméticas \pm EE.

Zona	Grupos		
	Control	Diazepam	Cecropia
2	5,5 \pm 1,1	5,1 \pm 0,9	5,2 \pm 1,1
3	2,8 \pm 0,7	2,5 \pm 0,6	4,0 \pm 0,9
4	1,6 \pm 0,4	3,8 \pm 0,7	2,1 \pm 0,6
5	0,7 \pm 0,3	1,1 \pm 0,6	1,0 \pm 0,5

ANEXO 2: Tabla 2. Valores de la variable tiempo de permanencia en las diferentes zonas del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico (LCEA), expresados en minutos, como medias aritméticas \pm EE.

Zona	Grupos		
	Control	Diazepam	Cecropia
Plataforma Central	1,7 \pm 0,5	0,54 \pm 0,1	0,72 \pm 0,3
2	2,00 \pm 0,5	2,82 \pm 0,5	2,78 \pm 0,4
3	0,49 \pm 0,2	0,50 \pm 0,2	1,00 \pm 0,2
4	0,70 \pm 0,3	1,00 \pm 0,4	0,46 \pm 0,3
5	0,07 \pm 0,03	0,10 \pm 0,1	0,08 \pm 0,4

ANEXO 3: Tabla 3. Valores de la prueba de Tiempo de Sueño Inducido, expresados en minutos, como medias aritméticas \pm EE.

Variables	Grupos		
	Control	Diazepam	Cecropia
Latencia para Hipnosis	3,5 \pm 0,35	2,5 \pm 0,2	3,0 \pm 0,23
Hipnosis	22,0 \pm 1,2	14,0 \pm 4,6	39,0 \pm 4,6
Narcosis	0	25,0 \pm 5,4	1,2 \pm 0,85
Depresión Total	22,0 \pm 1,2	61,0 \pm 4,0	43,0 \pm 3,0

ANEXO 4: Pauta de Observación programada:

Fecha			
Examinador		Rata N°	
Grupo		Peso	
Dosis de Solución		Vol. Adm.	
Dosis de Pentobarbital		Vol. Adm.	

1. Prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico:

	Número de Entradas	Tiempo de permanencia
Plataforma central		
Zona 1		
Zona 2		
Zona 3		
Zona 4		

2. Tiempo de Sueño Inducido:

	Inicio	Término	Duración
Latencia para Hipnosis			
Hipnosis			
Narcosis			
Depresión Total			

9. AGRADECIMIENTOS.

- Dr. Marcos Moreira E., profesor patrocinante, por la orientación entregada y la revisión crítica de esta memoria de título.
- Dr. Frederick Ahumada M., profesor copatrocinante, por su ayuda y consejos entregados.
- Dr. Mario F. Guerrero P., Dpto de Farmacia de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, por suministrar el extracto de *Cecropia sp.*
- Dra. Viviana Bustos, profesora colaboradora, por las sugerencias realizadas.
- Sra. Nury Sanchez, por su amistad y ayuda en la preparación de las soluciones
- Sra. Juanita Vargas, por su amabilidad y buena disposición en todo momento.
- Sr. Darío Salazar, por su colaboración en el manejo de los animales.
- Paula Mancilla, por su alegría y compañerismo durante la realización de esta memoria de título.
- Cecilia Mancilla, por su amor incondicional.