

# Estudio dosis-efecto de *Gelsemium sempervirens* en altas diluciones sobre respuestas relacionadas con la ansiedad en ratones

[Paolo Magnani](#), <sup>1</sup> [Anita Conforti](#), <sup>2</sup> [Elisabetta Zanolin](#), <sup>2</sup> [Marta Marzotto](#), <sup>1</sup> y [Paolo Bellavite](#) <sup>1</sup>

[Psychopharmacology \(Berl\)](#). 2010 Jul; 210(4): 533–545.

Published online 2010 Apr 20. doi: [10.1007/s00213-010-1855-2](https://doi.org/10.1007/s00213-010-1855-2)

## Abstracto

### Introducción

Este estudio fue diseñado para investigar la actividad ansiolítica putativa de dosis ultra bajas de *Gelsemium sempervirens* (*G. sempervirens*), producida de acuerdo con la farmacopea homeopática.

### Métodos

Cinco diferentes diluciones centesimales (C) de *G. sempervirens* (4C, 5C, 7C, 9C y 30C), el fármaco buspirona (5 mg / kg) y el vehículo disolvente se administraron por vía intraperitoneal a grupos de ratones ICR-CD1 durante un período de 9 días. Los efectos del comportamiento se evaluaron en pruebas de campo abierto (FO) y claro-oscuro (LD) de forma ciega y aleatoria.

### Resultados

La mayoría de las diluciones de *G. sempervirens* no afectaron la distancia total recorrida en el OF (solo el 5C tuvo un efecto estimulante casi significativo sobre este parámetro), lo que indica que el medicamento no causó efectos de sedación o cambios inespecíficos en la actividad locomotora. En la misma prueba, la buspirona indujo una disminución leve pero estadísticamente significativa en la locomoción. *G. sempervirens* mostró poca actividad estimulante en el tiempo dedicado y la distancia recorrida en la zona central de la OF, pero este efecto no fue estadísticamente significativo. En la prueba de LD, *G. sempervirens* aumentó el% de tiempo pasado en el compartimiento de luz, un indicador de actividad similar a la ansiolítica, con un efecto estadísticamente significativo usando las diluciones 5C, 9C y 30C. Estos efectos fueron comparables a los de la buspirona. El número de transiciones entre los compartimentos de la prueba de LD aumentó notablemente con las diluciones de *G. sempervirens* 5C, 9C y 30C.

### Conclusión

El patrón general de resultados proporciona evidencia de que *G. sempervirens* actúa sobre la reactividad emocional de los ratones, y que sus efectos ansiolíticos son evidentes, con una relación no lineal, incluso a altas diluciones.

**Palabras clave:** *Gelsemium sempervirens*, modelos animales de ansiedad, prueba de campo abierto, prueba luz-oscuridad, dosis ultrabajas, medicina complementaria, gelsemina, nanofarmacología

## Introducción

La ansiedad y los trastornos del comportamiento tienen una prevalencia relativamente alta en la sociedad moderna y consumen recursos financieros significativos. Los tranquilizantes o ansiolíticos más conocidos son los de la familia de las benzodiazepinas, que actúan modulando los receptores GABAérgicos, pero se conocen muchos otros, como la buspirona y otros fármacos pertenecientes a la clase de compuestos de azaespirodecanodiona, que actúan como agonistas de los receptores serotoninérgicos (5-HT<sub>1A</sub>). Sin embargo, el uso clínico de esos medicamentos no está exento de inconvenientes, en particular debido al riesgo de efectos secundarios como el deterioro psicomotor o la potenciación de otros fármacos depresores centrales (Lader [2008](#); Cloos y Ferreira [2009](#)). Además, el 25% de los pacientes con trastornos de ansiedad no responde lo suficiente al tratamiento de primera línea (Schosser y Kasper [2009](#)). Las benzodiazepinas no se recomiendan para el tratamiento a largo plazo de los trastornos de ansiedad generalizada, debido al desarrollo asociado de tolerancia, cambios cognitivos y de memoria, dependencia física y reacción de abstinencia al suspenderse (Allgulander et al., [2003](#)). Los remedios naturales que poseen la misma eficacia que los medicamentos convencionales, pero con menos efectos secundarios, serían por lo tanto una valiosa adición a las opciones de tratamiento para los trastornos relacionados con la ansiedad. Sin embargo, la aceptación de remedios alternativos hasta el momento se ha visto obstaculizada por la escasez de estudios farmacológicos que elucidan sus indicaciones, limitaciones y mecanismos de acción (Mamtani y Cimino [2002](#); Pilkington et al., [2006a](#), [b](#)).

En la Materia Médica tradicional, *Gelsemium sempervirens* (*G. sempervirens*) se describe como un remedio para una variedad de síntomas psicológicos y de comportamiento similares a la ansiedad (Boericke [1927](#); Barbancey [1987](#); Guermonprez [2006](#)); sin embargo, faltan pruebas consistentes de su eficacia. La planta, perteneciente a la familia Loganiaceae, es una enredadera originaria de América templada cálida y tropical, desde Guatemala hasta el sureste de los Estados Unidos. Todas las partes de esta planta contienen los alcaloides tóxicos relacionados con la estricnina gelsemine, gelseminine y sempervirine (Schun y Cordell [1987](#)). Gelsemine ha sido identificado como el principal marcador urinario de la exposición a *Gelsemium* (Lai y Chan [2009](#)). Los signos neurológicos caracterizados por marcadas debilidades progresivas y convulsiones que culminan en la muerte se han observado en cabras después de la ingestión de *G. sempervirens* y la consiguiente toxicosis (Thompson et al., [2002](#)); el néctar también es tóxico para las abejas melíferas (Irwin y Adler [2006](#)). En la literatura de fitoterapia, se ha informado que *G. sempervirens* muestra propiedades sedantes, analgésicas y anticonvulsivas, aunque las dosis efectivas no están claras (Valnet [1992](#), Demarque et al., [1995](#), Peredery y Persinger [2004](#)). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que este último efecto protector contra las convulsiones se obtuvo utilizando un extracto mezclado con *Scutellaria lateriflora* y *Datura stramonium*.

*G. sempervirens* en diluciones altas, preparadas de acuerdo con la farmacopea homeopática, ha sido investigado por algunos autores, pero los resultados informados no siempre son consistentes, principalmente debido a la incertidumbre relacionada con la metodología y la falta de evaluaciones estadísticas (Binsard [1979](#) ; Binsard et al. al. [1980](#) ; Sukul y cols., [1986](#) ; Guillemain y cols., [1989](#) ). Hubo dos estudios en los que se encontraron diluciones altas de *G. sempervirens* para tener una acción preventiva contra el estrés experimental (choque eléctrico) en ratones (Bousta y otros [2001](#) ) y contra convulsiones provocadas por litio y pilocarpina en ratas (Peredery y Persinger) [2004](#) ). En ensayos recientes en nuestro laboratorio, *G. sempervirens* mostró efectos ansiolíticos prometedores en la prueba de campo abierto y pareció funcionar incluso a altas diluciones (Bellavite et al., [2009a](#) ), pero no se realizó un estudio sistemático de dosis-respuesta. En consecuencia, hay margen para nuevos estudios que exploren los efectos de *G. sempervirens* en modelos de ratón de respuesta emocional y, en particular, para investigar la dependencia de la dosis (o dilución) de tales efectos.

Las investigaciones experimentales llevadas a cabo en soluciones altamente diluidas han sufrido problemas de replicabilidad entre diferentes laboratorios (Bellavite et al., [2006a](#) , [b](#) ; Witt et al., [2007](#) ). Por lo tanto, es importante que los resultados preliminares en este campo se confirmen y consoliden a través de nuevas investigaciones de laboratorios independientes, utilizando protocolos rigurosos y evaluaciones estadísticas. En consecuencia, adoptamos un protocolo cuidadosamente definido y lo aplicamos a una serie de experimentos diseñados para probar (a) la hipótesis nula de que el efecto de cualquier dilución del fármaco es similar al del vehículo de control y (b) si existe dependencia de la dosis del supuesto los efectos pueden ser demostrados. Empleamos dos modelos bien validados que exploran el comportamiento de los ratones en entornos novedosos, a saber, la prueba de campo abierto (OF) y la prueba de elección entre claro y oscuro (LD), para adquirir diversos parámetros de comportamiento utilizados en neuropsicofarmacología para el cribado de fármacos. La prueba OF (Walsh y Cummins [1976](#) ; Simon et al., [1994](#) ; Prut y Belzung [2003](#) ; Lamprea et al., [2008](#) ) se utiliza ampliamente como prueba de locomoción, ya que los ratones pueden moverse libremente en todo el campo y la distancia recorrida durante un tiempo fijo puede medirse (Mi et al., [2005](#) ; de Araujo et al., [2009](#) ; Vasconcelos, et al., [2009](#) ). Sin embargo, un análisis etológico detallado de la prueba OF, incluido el tiempo transcurrido y la distancia recorrida en el centro / periferia del campo, permite no solo examinar la actividad general sino también detectar efectos específicos de las drogas en parámetros de comportamiento como la exploración de campo propensión y thigmotaxis (Choleris et al., [2001](#) ; Ramos et al., [2008](#) ; Fukushiro et al., [2009](#) ). El sistema modelo LD de dos compartimentos (Crawley y Goodwin [1980](#) ; Hascoet y otros [2001](#) ; Belzung y Griebel [2001](#) ; Bourin et al., [2007](#) ) es uno de los paradigmas comportamentales más utilizados: los ansiolíticos clásicos (benzodiazepinas) y los más nuevos. compuestos ansiolíticos (p. ej., fármacos serotoninérgicos o que actúan sobre receptores de neuropéptidos) (Bourin y Hascoet [2003](#) ) y compuestos naturales (Chen et al., [2004](#) ; de Araujo et al., [2009](#) ) pueden detectarse utilizando este paradigma, ya que aumentan el tiempo pasado en el compartimento iluminado y el número de transiciones exploratorias.

Nuestros experimentos se realizaron en respuestas no condicionadas, utilizando paradigmas basados en la etología que implican reacciones espontáneas a estímulos no dolorosos. Los modelos etológicos fueron elegidos tanto por razones éticas como porque nuestro objetivo era imitar las condiciones naturales en las que el

comportamiento está influenciado por estados emocionales de miedo, curiosidad y ansiedad. Las observaciones etológicas muestran que, aunque los roedores naturalmente tienden a explorar un ambiente novedoso, los campos abiertos y los espacios iluminados les son antipáticos y, por lo tanto, contrarrestan las respuestas conductuales normales (Griebel et al., [1993](#) ; Clement et al., [2007](#) ). Es concebible que estos dos impulsos conflictivos hagan que la prueba sea muy sensible incluso a estímulos extremadamente débiles, como podría esperarse de dosis ultrabajas de una sustancia activa. Sin embargo, los modelos etológicos están sujetos a diferencias interindividuales y niveles de referencia conductuales variables (Bourin et al., [2007](#) ) por lo que se debe tener mucho cuidado con parámetros variables como el entorno, el manejo y las pruebas.

En este trabajo, tratamos de investigar el rango más amplio posible de diluciones de *G. sempervirens* compatibles con las restricciones técnicas y la variabilidad intersubjetiva esperada. En consecuencia, probamos los efectos de baja (4C y 5C), medio (7C y 9C) y altas diluciones (30C) del extracto de la planta. Se espera que las diluciones tales como las diluciones centesimales 4ta y 5ta (4C-5C) de extractos crudos contengan concentraciones ultrabajas del ingrediente activo pretendido, pero que aún caigan dentro del rango molecular desde el factor de dilución del primer extracto etanólico (tintura madre ) es  $10^8$  - $10^{10}$  veces. Por otro lado, las diluciones de 12C ( $10^{24}$  veces) o superiores teóricamente no contienen moléculas de la tintura madre ya que el factor de dilución excede el límite de Avogadro-Loschmidt (Sainte-Laudy y Belon [2009](#) ).

Dado que usamos dosis extremadamente bajas de drogas, los animales fueron tratados usando un régimen crónico de una inyección ip todos los días durante 8-9 días. Como control positivo, utilizamos el agonista bupirona 5-HT (1A), que es adecuado para tratamientos crónicos, en una dosis de 5 mg / kg, que se encuentra dentro del rango de dosificación generalmente empleado para detectar la actividad ansiolítica en roedores ( Cole y Rodgers [1994](#) ; Merali et al., [2003](#) ; Grundmann et al., [2007](#) ; Yamauchi et al., [2008](#) ). Los agonistas de 5-HT1A parciales como la bupirona producen efectos ansiolíticos en roedores evaluados mediante la prueba LD, mientras que se han informado resultados contrastantes con agonistas completos del receptor 5-HT1A como 8-hidroxi-2- (di-n-propilamino) -tetralina (8 -OH-DPAT) (Young y Johnson [1991a](#) , Shimada y otros [1995](#) , Bilkei-Gorzo y otros [1998](#) ). Los grupos de animales tratados con fármaco se compararon con grupos de control tratados con soluciones del mismo vehículo usado para preparar las diluciones de fármaco.

## **Materiales y métodos**

### **Sujetos y manejo**

Se compraron ratones machos de 4 a 5 semanas de edad de la cepa ICR-CD1 de Charles River Laboratories (Lecco, Italia) y se dejaron aclimatar durante 2 semanas antes de la prueba de forma controlada (temperatura  $22 \pm 2$  ° C, humedad  $55\% \pm 5\%$  ) instalación de animales. Al comienzo de los tratamientos, el peso corporal de los animales era de  $30 \pm 3$  g. Para cada experimento, 64 ratones se distribuyeron aleatoriamente, dos por jaula, en jaulas de plástico (tamaño:  $25 \times 14 \times 12$  cm) y se alojaron con comida y agua disponibles a voluntad, excepto durante los breves períodos de prueba. Las luces se encendieron entre las 7 am y las 7 pm Las jaulas se colocaron en un estante que constaba de cuatro filas de ocho jaulas dispuestas de tal manera que las jaulas asignadas a diferentes grupos experimentales se distribuían uniformemente a lo largo de filas y

columnas. La secuencia de los grupos -y, por lo tanto, el orden de inyección y prueba se alteró de manera uniforme para garantizar intervalos similares entre las operaciones para los diferentes grupos en el transcurso del experimento. Cada animal se usó solo una vez en la misma prueba para evitar los efectos de confusión del aprendizaje y la habituación. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las políticas italianas de los NIH sobre el uso de animales en investigación, y los procedimientos de prueba fueron aprobados independientemente por el Comité Ético Animal del Centro Interdepartamental de Investigación Animal (CIRSAL) de la Universidad de Verona y por la Agencia de Salud Italiana. Ministerio.

## Drogas

Los medicamentos para este estudio fueron producidos por Boiron Laboratoires, Lyon (F), a partir de un extracto hidroalcohólico completo de *G. sempervirens*, que se diluyó 100 veces en etanol al 30% / agua destilada para obtener la dilución 1C. Posteriormente, se realizaron diluciones en serie de 100 × hasta 29°C en el mismo disolvente usando botellas de vidrio. Después de cada dilución, la botella se agitó vigorosamente usando un agitador mecánico. Las diluciones 3C, 4C, 6C, 8C y 29C se almacenaron en la oscuridad a temperatura ambiente. El contenido de gelsemina, el principal alcaloide de *G. sempervirens* (Fig. 1), en el primer extracto hidroalcohólico fue del 0,021% (p / v), que corresponde a una concentración de  $6,5 \times 10^{-4}$  mol / l. La solución de control (vehículo) era el mismo lote de 30% de solución de etanol / agua destilada utilizada para preparar las diluciones del fármaco.



**Figura 1**

Un dibujo de la planta de *G. sempervirens* y la estructura de su principal alcaloide gelsemine

Antes de usarse en cada experimento, se agregaron muestras de 0,4 ml de las soluciones a 39,6 ml de agua estéril destilada y apirogénica en un tubo estéril de plástico Falcon de 50 ml, se cerraron con un tapón de plástico y se agitaron manualmente con 20 movimientos verticales fuertes para obtener las diluciones finales 4C, 5C, 7C, 9C y 30C y el vehículo de control utilizado para los tratamientos, con una concentración final de etanol reducida al 0.3% (v / v). Buspirona (Sigma, dosis final de 5 mg / kg) se diluyó en la solución final del vehículo (etanol al 0,3% en agua destilada). Para cegar a los operadores con respecto a las soluciones de prueba, todas las muestras fueron codificadas por una persona independiente y los códigos se guardaron sellados dentro de un sobre hasta que se completaron todas las pruebas y cálculos. Las soluciones se distribuyeron en tubos de plástico Falcon estériles de 15 ml (4 ml / tubo), se envolvieron en papel de aluminio y se almacenaron a + 4 ° C hasta el día de uso. Antes de usar, cada tubo se agitó manualmente de nuevo con 20 golpes. Todos los procedimientos se realizaron en condiciones estériles y utilizando material de plástico estéril desechable. Las soluciones finales utilizadas para los tratamientos se probaron mediante cromatografía de gases y espectroscopía de masas para determinar la posible contaminación con buspirona; los resultados de estas pruebas fueron negativos.

## Tratos

Se calculó un tamaño de muestra mínimo requerido de  $n = 42$  sujetos por grupo sobre la base de la experiencia previa (Bellavite et al., [2009b](#)) y se asumió un nivel de poder estadístico preestablecido de 0,9 y un nivel alfa de 0,05. Dado que varias dosis debían analizarse en paralelo, el estudio se realizó con seis repeticiones, cada una con un tamaño mínimo de muestra de ocho. Por lo tanto, en cada experimento, los ratones fueron aleatorizados en ocho grupos de ocho animales: cinco grupos fueron tratados con las diferentes diluciones de *G. sempervirens*, un grupo con buspirona y dos grupos con el vehículo (control). Se incluyeron dos grupos de animales tratados con vehículo de control tanto para obtener valores de referencia altamente consistentes para calcular los efectos del fármaco como para permitir la comparación de dos grupos idénticos para determinar la estabilidad entre grupos del entorno experimental.

Todos los experimentos se realizaron entre las 09:00 y las 14:00 (LD) y entre las 09:00 y las 15:00 (OF). Las soluciones se administraron por la mañana durante nueve días consecutivos (incluso en los últimos dos días cuando se analizaron los animales) por inyección intraperitoneal (ip) (0,3 ml / ratón). Los tratamientos se administraron fila por fila, y las pruebas de comportamiento comenzaron 30 minutos después de las inyecciones de drogas. Los animales se analizaron individualmente en cuatro dispositivos separados, lo que permitió probar un conjunto completo de hasta 64 ratones (8 animales  $\times$  8 grupos) durante una sesión experimental de 4 a 5 h.

## **Pruebas de comportamiento**

Los experimentos se realizaron en el siguiente orden: prueba de exploración de campo abierto (OF) el primer día (8° día de administración del fármaco) y prueba de elección entre luz y oscuridad (LD) el día siguiente (9° día de administración del fármaco). Justo antes de la prueba, se permitió que los animales se aclimataran a la habitación dentro de sus jaulas durante 3 minutos después de ser trasladados de su área de alojamiento habitual. Los operadores se quedaron afuera de la sala de pruebas durante la grabación de las sesiones experimentales. Además de las inyecciones y pruebas de tratamiento, los animales no fueron sometidos a dolor u otras formas de estrés emocional o físico.

## **Prueba de campo abierto**

La prueba OF (Prut y Belzung [2003](#); Simon y cols., [1994](#); Walsh y Cummins [1976](#)) se realizó colocando un animal durante 10 min en un entorno formado por una plataforma de madera pintada de negro de 50  $\times$  50 cm con un entorno de 25 cm de altura paredes iluminadas con luz blanca (100 lx). Para evaluar la propensión exploratoria central, la arena se dividió virtualmente en dos partes, con una zona central cuadrada que tenía un área correspondiente al 25% del área total. El aparato se limpió a fondo con agua y papel desechable blando entre ensayos, y con agua y detergente entre experimentos.

## **Prueba luz-oscuridad**

El aparato de prueba LD (Bourin y Hascoet [2003](#); Chen et al., [2004](#); Hascoet et al., [2001](#)) consistía en un compartimiento oscuro pequeño y seguro (15  $\times$  30 cm) y un gran compartimiento iluminado aversivo (30  $\times$  30 cm). Los dos compartimientos estaban separados por una división con una abertura (4  $\times$  4 cm) a través de la cual el animal podía pasar de un compartimiento al otro. El compartimiento aversivo estaba iluminado con 200 lx. Los animales se colocaron en el centro del compartimiento iluminado frente



a la abertura y se dejaron para explorar el espacio durante un período de prueba de 5 minutos. El número de transiciones entre los compartimentos claro y oscuro en la prueba LD también fue evaluado en la pantalla por un operador que desconocía la asignación grupal de los ratones. El aparato se limpió a fondo entre ensayos.

## Seguimiento de video

Todas las sesiones se grabaron con una cámara de seguimiento de video (GZ-MG135, JVC, Japón) y se almacenaron en DVD. Se usó un programa de software (sistema VTS "inteligente" de PanLab, Barcelona, E) para rastrear automáticamente la posición y los movimientos de los animales y calcular el tiempo pasado en diferentes zonas y la distancia recorrida. Todas las grabaciones de comportamiento se llevaron a cabo con el observador inconsciente de la asignación del grupo de tratamiento de los ratones.

## Estadística

Todos los análisis se realizaron con el software SPSS, versión 17 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU. : <http://www.spss.com>). Todos los datos se representan como valores medios  $\pm$  SEM. La prueba de Shapiro-Wilk indicó que los datos obtenidos eran paramétricos. Los grupos se compararon mediante un análisis de varianza de dos vías, utilizando el grupo de tratamiento y el experimento como factores. Las pruebas *t de post hoc* se realizaron suponiendo correcciones iguales con correcciones de diferencia mínima significativa (LSD) para ajustar para comparaciones múltiples.

El efecto neto de los fármacos se calculó en forma estandarizada como un porcentaje relativo a los valores medios de todos los controles en cada experimento (tomado como efecto cero) de acuerdo con la fórmula:

$$[(\text{Test value of each mouse} / \text{mean test value of 16 control mice}) - 1] \times 100.$$

Esto permitió que los efectos observados en todos los experimentos se agruparan, se compararan y se evaluaran estadísticamente.

## Resultados

### Prueba de campo abierto

Los valores medios de cada experimento de OF y los valores medios  $\pm$  SEM de todos los experimentos, con evaluaciones estadísticas, se informan en los cuadros [1](#), [2](#) y [3](#). La Tabla [1](#) muestra la distancia total recorrida en toda la arena de campo abierto. Este parámetro no refleja los cambios en el comportamiento emocional, pero es importante para evaluar la actividad locomotora total de los animales durante la prueba de 10 minutos. Las diluciones de *G. sempervirens* no cambiaron estos valores en comparación con los animales de control no tratados, excepto por la dilución 5C, que produjo un aumento en este parámetro que solo pasó por alto la significación estadística ( $p = 0.052$ ). La bupiriona causó una disminución pequeña, pero estadísticamente significativa ( $p = 0.002$ ), en la distancia total recorrida en el campo, lo que sugiere un posible efecto sedante de este fármaco a la dosis utilizada.

Exp. no.	Mean of controls	Gels 4	Gels 5	Gels 7	Gels 9	Gels 30	Bupiro
1	3,433.8	3,190.1	3,191.2	2,893.6	3,479.2	3,266.7	3,211.1
2	4,729.7	4,862.4	6,130.5	4,805.8	5,493.1	5,521.5	4,211.1
3	5,536.1	5,701.3	5,668.9	6,347.2	4,961.0	5,342.2	5,211.1
4	5,327.3	5,914.7	5,566.6	5,687.0	5,815.6	6,363.1	4,211.1
5	6,182.2	5,645.3	6,477.2	6,325.1	5,820.9	5,948.1	4,211.1
6	4,944.0	5,516.1	5,116.8	4,816.0	4,844.3	5,360.8	4,211.1
No. of animals/group	96	48	48	48	48	48	48
Mean (S.E.M.)	5,025.5 (134.9)	5,155.0 (182.8)	5,308.5 (191.4)	5,112.4 (219.0)	5,035.7 (175.0)	5,217.1 (181.1)	4,211.1 (171.1)
ANOVA for groups (df=8, F=2.10, p=0.035; for experiments (df=5, F=72.2, p=0.001)							
38, F=1.3, p=0.140							
post hoc <sup>a</sup>	-	0.448	0.052	0.611	0.953	0.282	0.001

tabla 1

Distancia total recorrida en campo abierto (cm / 10 min)

Exp. no.	Mean of controls	Gels 4	Gels 5	Gels 7	Gels 9	Gels 30	Bupiro
1	6.7	6.2	6.4	9.0	8.5	7.1	7.8
2	13.0	11.1	13.4	19.4	15.9	15.8	12.6
3	15.0	17.8	15.6	16.2	17.8	17.5	16.5
4	15.2	18.5	19.0	16.8	17.9	15.8	n.i.
5	17.5	13.8	16.3	18.3	19.1	18.2	14.7
6	14.3	11.2	14.8	16.4	12.5	17.8	19.4
No. of animals/group	96	48	48	48	48	48	48
Mean (S.E.M.)	13.6 (0.8)	13.1 (0.9)	14.6 (0.8)	16.0 (1.1)	15.3 (1.0)	15.4 (1.2)	14.2 (1.0)
ANOVA for groups (df=8, F=1.87, p=0.063; for experiments (df=5, F=30.1, p=0.001)							
experiments (df=38, F=0.75, p=0.858)							
n.i. not tested							

Tabla 2

Tiempo de permanencia en el área central del campo abierto (% del tiempo total)

Exp. no.	Mean of controls	Gels 4	Gels 5	Gels 7	Gels 9	Gels 30	Bupiro
1	434.4	343.5	378.5	367.8	515.1	390.0	381.1
2	857.1	782.1	1,217.3	1,079.9	1,162.1	1,010.3	761.1
3	1,166.5	1,370.5	1,216.6	1,382.8	1,126.0	1,341.4	1,111.1
4	1,146.7	1,363.8	1,313.7	1,175.2	1,275.3	1,345.6	811.1
5	1,320.6	1,102.4	1,390.1	1,424.5	1,369.2	1,318.7	861.1
6	866.3	955.5	965.5	965.4	882.9	1,090.6	1,111.1
No. of animals/group	96	48	48	48	48	48	48
Mean (S.E.M.)	975.3 (95.1)	993.0 (78.9)	1,085.3 (83.4)	1,085.9 (84.7)	1,053.4 (83.3)	1,082.6 (78.6)	841.1 (89.4)
ANOVA for groups (df=8, F=1.68, p=0.107; for experiments (df=5, F=68.3, p=0.001)							
38, F=1.07, p=0.353							
n.i. not tested							

Tabla 3

Distancia recorrida en el centro del campo abierto (cm / 10 min)

Las dos principales variables conductuales evaluadas en la prueba OF fueron el porcentaje de tiempo transcurrido en la zona central del campo (Tabla 2) y la distancia recorrida en la zona central (Tabla 3). Como se muestra en la Tabla 1, hubo una variabilidad significativa entre los experimentos ( $p < 0,001$ ) pero no hubo interacción entre los experimentos y los grupos, lo que indica que los efectos observados de los fármacos no se vieron influenciados por las diferencias entre los experimentos. En la mayoría de los experimentos, algunas diluciones de *G. sempervirens* parecían aumentar el tiempo pasado en la zona central. Los valores del grupo tratado con *G. sempervirens* 7C fueron más altos que la media de los controles en todos los experimentos, mientras que los del grupo 9C fueron más altos en todos los casos que en uno (experimento n.º 6). Sin embargo, el ANOVA global para los grupos arrojó un valor de solo  $p = 0,063$ , lo que impide el análisis post hoc para evaluar la significación estadística de las diluciones individuales. Los experimentos no revelaron ninguna relación de dosis-dependencia clara y reproducible. La droga estándar bupirona tuvo poco o ningún efecto sobre el tiempo que se pasó en la zona central. Se observaron resultados similares para la distancia recorrida en el centro de la OF (Tabla 3): *G. sempervirens* 5C, 7C, 9C y 30C mostraron una ligera tendencia a aumentar la distancia recorrida en la zona central, mientras que la bupirona tendió a disminuir la misma parámetro; sin embargo, la magnitud de estos efectos no alcanzó el umbral de significación estadística.



## Prueba luz-oscuridad

Los valores medios de cada experimento LD y los valores medios  $\pm$  SEM de todos los experimentos, con evaluaciones estadísticas, se informan en los cuadros [4](#) y [5](#). También en esta prueba, hubo una diferencia significativa entre los experimentos ( $p = 0.002$ ) pero ninguna interacción entre grupos y experimentos. En la prueba de LD, la mayoría de las diluciones de *G. sempervirens* y el fármaco de referencia ansiolítico convencional resultaron ser significativamente efectivas (ANOVA global para los grupos  $p = 0.002$  y  $p = 0.001$  para los datos de los Cuadros [4](#) y [5](#), respectivamente). El porcentaje de tiempo transcurrido en el compartimiento iluminado (Tabla [4](#)) se incrementó significativamente con las diluciones 5C y 9C *G. sempervirens*, mientras que 30C exhibió una significación marginal. La dilución de 9C tuvo un efecto mayor que la media de los controles en todos los experimentos y mostró la mayor significación estadística ( $p < 0,001$ ). Sin embargo, no fue evidente una clara relación dosis-dependencia en esta serie de experimentos. El fármaco estándar buspirona aumentó el tiempo de permanencia en el compartimiento iluminado, como se esperaba, lo que confirma la sensibilidad de la prueba.

Exp. no.	Mean of controls	Gels 4	Gels 5	Gels 7	Gels 9	Gels 30	Buspirona
1	16.8	19.7	25.8	17.3	26.8	25.5	20.6
2	17.9	18.4	21.4	17.3	24.1	21.3	23.4
3	21.0	24.8	26.7	26.4	26.8	18.8	21.3
4	15.7	20.7	17.4	21.7	23.8	22.9	n.t.
5	23.0	19.7	21.6	21.3	26.1	18.8	30.6
6	13.8	21.2	17.1	19.0	19.0	19.7	19.4
No. of animals/group	96	48	48	48	48	48	40
Mean (S.E.M.)	18.0 (1.0)	20.7 (1.4)	21.7 (1.4)	20.5 (1.4)	24.4 (1.2)	21.2 (1.3)	23.1 (1.3)
ANOVA for groups df=8, F=3.04, p=0.002; for experiments df=5, F=3.94, p=0.005; experiments df=30, F=0.78, p=0.612							
t hoc <sup>a</sup>	-	0.111	0.032	0.146	<0.001	0.064	0.005

[Tabla 4](#)

Tiempo de permanencia en el área iluminada de la prueba claro / oscuro (% del total)

Exp. no.	Mean of controls	Gels 4	Gels 5	Gels 7	Gels 9	Gels 30	Buspirona
1	5.6	5.8	5.1	5.1	6.8	9.2	5.9
2	6.5	6.6	9.6	6.3	10.4	8.2	8.0
3	7.2	9.5	8.6	9.6	9.5	6.5	6.9
4	6.4	7.3	7.4	7.7	9.5	11.5	n.t.
5	8.2	7.7	9.0	9.1	9.7	9.9	7.3
6	4.5	8.5	7.4	6.4	7.3	7.1	6.6
No. of animals/group	96	48	48	48	48	48	40
Mean (S.E.M.)	6.4 (0.4)	7.5 (0.6)	7.9 (0.6)	7.4 (0.5)	8.9 (0.6)	8.7 (0.6)	6.9 (0.4)
ANOVA for groups df=8, F=3.29, p=0.001; for experiments df=5, F=5.08, p=0.001; experiments df=30, F=0.78, p=0.620							
t hoc <sup>a</sup>	-	0.096	0.034	0.152	<0.001	0.001	0.472

[Tabla 5](#)

Transiciones entre compartimentos de prueba claro-oscuro (n / 5 min)

Los resultados para el número de transiciones entre compartimentos (Tabla [5](#)) mostraron un efecto estimulante similar de las diluciones de *G. sempervirens*. Sin embargo, la buspirona, en comparación con el control, tuvo un efecto menor en el número de transiciones que en el tiempo pasado en el compartimiento iluminado. Dado que el número de transiciones depende de la actividad locomotora, esto puede estar relacionado con un pequeño efecto sedante, como también se observa en la prueba OF.

La importancia de los efectos ansiolíticos de *G. sempervirens* en esta prueba se ve reforzada por la observación de que los dos grupos separados tratados con el vehículo de control produjeron puntajes similares, y ambos fueron diferentes de los de los grupos tratados con verum.

## Resumen de los efectos porcentuales

Los resultados de todos los experimentos se combinaron después de estandarizar los valores para cada ratón con respecto al valor medio para los ratones control de ese experimento. Las diferencias entre cada ratón de control tratado con vehículo, en relación con el valor medio de todos los controles en el mismo experimento, también se calcularon. Esto hizo posible evaluar la variación entre los dos grupos de control y la estabilidad del sistema. Un resumen de los principales resultados de esta investigación se proporciona en la Fig. 2. El valor del porcentaje de efecto medio para todos los ratones en los grupos tratados muestra claramente un pequeño aumento debido a las diluciones de *G. sempervirens* en el paradigma OF (paneles A y B). En el OF, los animales tratados con *G. sempervirens* (5C, 7C, 9C y 30C) mostraron una actividad 10-20% mayor que el control. Sin embargo, debido a la variabilidad interindividual de las respuestas, estos efectos no alcanzaron significación estadística en el análisis ANOVA global. La bupirona tuvo un efecto pequeño, no significativo, sobre la cantidad de tiempo que pasó en el centro (panel A) y mostró una tendencia a inhibir la distancia recorrida en el centro (panel B).

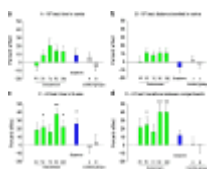


Figura 2

Efectos de las diluciones de *G. sempervirens* y de la bupirona sobre los parámetros conductuales OF ( a y b ) y LD ( c y d ), expresados como porcentajes  $\pm$  SEM con respecto a los valores medios para los animales de control tratados con vehículo.  $N = 48$

...

El tratamiento con *G. sempervirens* causó un aumento marcadamente significativo en los parámetros del paradigma LD (paneles C y D). Aquí, las soluciones de *G. sempervirens* más activas (5C, 9C y 30C) aumentaron los parámetros, considerados como un signo de ansiedad reducida, en un 20-40%. Con respecto al tiempo pasado en el compartimiento de luz, este efecto fue comparable al de la bupirona, mientras que en términos del número de transiciones, el efecto de *G. sempervirens* 9C y 30 C fue mucho mayor y más significativo que el de la bupirona. Esto probablemente se debió a un efecto sedante de bupirona que redujo la velocidad de movimiento de los ratones, un efecto que no se observó usando diazepam (1 mg / kg en tratamiento agudo) en un experimento separado realizado en las mismas condiciones (datos no mostrados). Los grupos de control A y B mostraron, en los diversos modelos experimentales, una variabilidad (positiva y negativa) relativa a la media que no excedió el 5%, tendiendo a apoyar la conclusión de que los efectos del fármaco son reales y no atribuibles al azar.

## Discusión

Las benzodiazepinas han monopolizado el mercado de la ansiedad durante unos 40 años, pero su potencial de tolerancia y dependencia ha estimulado el interés en ansiolíticos alternativos. La atención se ha centrado en fármacos como los inhibidores de la monoaminoxidasa, los antidepresivos tricíclicos, los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y el agonista parcial de 5-HT1A, bupirona (Bandelow et al.,

[2002](#) ; Allgulander et al., [2003](#) ). El desafío para el futuro no es solo encontrar tratamientos eficaces con un perfil aceptable de efectos secundarios, sino también determinar los compuestos óptimos para cada uno de los diferentes trastornos de ansiedad. Recientemente, se ha prestado más atención a las formas de satisfacer de manera rentable la demanda de tratamiento a fin de contener los gastos de los servicios de salud (Morgan y Jorm [2009](#) ). La ansiedad y la depresión se encuentran entre los síntomas más frecuentemente reportados por pacientes que buscan tratamientos médicos complementarios y alternativos, homeopatía y remedios naturales (Mathie y Robinson [2006](#) , Thompson et al., [2008](#) , Greeson et al., [2008](#) , Guethlin et al., [2009](#) ).

*G. sempervirens* es uno de los remedios clásicos utilizados en medicina complementaria para tratar pacientes que presentan síntomas neurológicos similares a la ansiedad. En la Materia Médica tradicional (Boericke [1927](#) ), *G. sempervirens* se describe como una cura para una variedad de síntomas neurológicos y conductuales, como postración general, mareos, somnolencia, embotamiento, temblores, sensación de cansancio, apatía mental, debilidad muscular, postración, falta de coordinación muscular, depresión general causada por el calor del sol, excitación emocional, efectos negativos provocados por el miedo o noticias emocionantes, etc. En resumen, la acción del remedio se centra en el sistema nervioso y se han sugerido efectos sobre los síntomas conductuales de tipo ansioso (Barbancey [1987](#) ; Guermonprez [2006](#) ) pero no se ha demostrado. Como en el caso de muchos otros remedios alternativos, la evidencia de la eficacia clínica y preclínica (modelos de laboratorio y animales) es escasa o completamente inexistente (Carpenter y Neal [2005](#) ; Pilkington et al., [2006a](#) ).

Nuestros experimentos proporcionan pruebas sólidas de que varias diluciones de *G. sempervirens* tienen un efecto similar al ansiolítico en ratones en la prueba de LD, sin ningún efecto sobre el componente locomotor ensayado por la prueba OF. Los efectos de algunas de las dosis probadas de *G. sempervirens* , concretamente 9C y 30C, en el tiempo pasado en el área iluminada de la prueba LD fueron comparables o incluso mejores que las de la buspirona ansiolítica estándar.

En el paradigma OF, *G. sempervirens* produjo un aumento leve, pero no significativo, en la cantidad de tiempo pasado en el centro del campo, mientras que la buspirona no tuvo ningún efecto significativo. Una posible explicación de esta escasez de resultados en la prueba OF podría ser que en las condiciones experimentales de esta investigación, esta prueba no fue lo suficientemente sensible para detectar la ansiedad y los efectos ansiolíticos relacionados con la droga. Otros han informado que los tratamientos ansiolíticos en sí mismos no aumentan la exploración en la zona central del OF, sino que contrarrestan la inhibición del comportamiento exploratorio inducida por el estrés (Bourin et al., [2007](#) ). Dado que nuestro entorno experimental no implicaba una exposición previa al estrés, es posible que en tales condiciones la respuesta de los ratones a los fármacos fuera leve. Esta interpretación parece consistente con la de Bousta et al. ( [2001](#) ) que informan algunos efectos de tipo ansiolítico de *G. sempervirens* en ratones estresados por descargas eléctricas repetidas, pero sin efectos en ratones normales.

Otro problema con la interpretación de los datos OF de esta investigación surge de la reducción significativa en el componente locomotor inespecífico producido por buspirona, mientras que las diluciones de *G. sempervirens* no causaron tal efecto. La buspirona se administró durante un período de 8-9 días en paralelo con *G. sempervirens*

debido a que es un fármaco de referencia estándar adecuado para tratamientos crónicos, ya que no desarrolla la tolerancia típica de las benzodiazepinas (Miller y Koff [1994](#) ; Khan y Haleem [2007](#) ). Es posible que, a las dosis utilizadas y, en estas condiciones experimentales particulares, la buspirona podría haber inducido un síndrome serotoninérgico que interferiría con la actividad locomotora y efectos ansiolíticos-similares. Efectos ansiolíticos leves parecidos acompañados de una reducción de las medidas de actividad general, producidos por la buspirona en dosis de 2,5-5,0 mg / kg, han sido reportados por otros (Cole y Rodgers [1994](#) ). Queda por determinar si dosis más bajas de buspirona podrían evitar causar este efecto secundario no deseado mientras se mantiene su actividad de tipo ansiolítico. En cualquier caso, las dosis utilizadas en la presente investigación cayeron dentro de la gama media de los empleados comúnmente para la detección de efectos ansiolíticos-como en roedores (Costall et al. [1989](#) ; jóvenes y Johnson [1991b](#); Merali et al. [2003](#) ; Harada et al. [2006](#) ; Young et al. [2006](#) ; Grundmann et al. [2007](#) ; Pogorelov et al. [2007](#) ; Yamauchi et al. [2008](#) ). Dicho esto, dada la tendencia de la buspirona para producir la supresión del comportamiento general, podría ser aconsejable en futuras investigaciones de emplear un medicamento diferente (por ejemplo benzodiazepina soluble en agua) como un control positivo en parámetros experimentales similares.

Una comparación de los datos para los dos modelos de prueba muestra que los efectos de tipo ansiolítico como de *G. sempervirens* y buspirona eran más altos y más significativo en el LD que en el DE de prueba. Esta diferencia puede deberse a varias razones. Una primera posibilidad es que las dos pruebas exploran aspectos de comportamiento distintos que se ven afectados de diferentes maneras por los remedios, como también confirmado por su diferente sensibilidad a la buspirona fármaco convencional. La caja de luz / oscuridad es ampliamente utilizado con roedores como un modelo para el cribado de fármacos ansiolíticos o ansiogénicos, basado en la aversión innata de los roedores a los brillantes zonas iluminadas y la conducta exploratoria espontánea de los roedores en respuesta a factores de estrés, tales suaves como son nuevos entornos y luz (Crawley y Goodwin [1980](#)). Belzung y Griebel sugieren que la prueba de luz-oscuridad y el laberinto en cruz elevado son los dispositivos más adecuados para evaluar el “estado de ansiedad”, mientras que el paradigma del libre-exploratorio se puede utilizar para “ansiedad rasgo” (Griebel et al. [1993](#) ; Belzung y Griebel [2001](#) ). Sin embargo, la prueba de campo abierto también se utiliza como un modelo de estado de ansiedad (Bourin et al. [2007](#) ), y hay pocos modelos animales ansiedad-rasgo verdaderos, con los de uso basándose en paradigmas genéticos o la exposición crónica a temer que provocan estímulos.

Una explicación alternativa es que las pruebas de los animales en dos días sucesivos podría haber cambiado el nivel de ansiedad de línea de base y, por lo tanto, su respuesta a los tratamientos. Se ha observado que el grado en el que un compuesto ansiolítico puede facilitar la actividad exploratoria depende del nivel de línea de base de la ansiedad en el grupo de control (Hascoet et al. [2001](#) ). Dado que nuestro entorno experimental no implicó la exposición previa al estrés y los ratones fueron naïve a prueba cuando la prueba OF se realizó en el primer día de ensayos, es posible que en esas condiciones la respuesta de los ratones a *G. sempervirens* era baja debido a que su nivel de ansiedad basal, tal como se evaluó por el DE de prueba, fue menor. El nivel de ansiedad de los animales podría haber aumentado en el segundo día de los ensayos, y esto podría haber inducido una mayor respuesta a los tratamientos en el ensayo de LD. Las diferencias entre el tipo y gravedad de los factores de estrés externos, y entre las

configuraciones experimentales, pueden dar cuenta de la alta variabilidad de los resultados reportados en diferentes condiciones experimentales y por diferentes laboratorios (Bourin et al. [2007](#) ).

El problema de la dosis es, obviamente, el centro de la farmacología. A partir de los datos combinados de todos los experimentos, emerge evidencia clara y coherente lo que indica que las diluciones inferiores (4c) fueron menos eficaces (o totalmente inactivo en el de los parámetros) de diluciones más altas (9C y 30C). Sin embargo, el patrón es mucho más compleja, ya que, en el ensayo de LD donde se observaron los datos más significativos, el 7C y 30C diluciones mostraron efectos más bajas que 5C y 9C, respectivamente. Una serie de observaciones procedentes de varios campos de investigación (Belougne-Malfatti et al. [1998](#) ; Brown y Ennis [2001](#) ; Marotta et al. [2003](#) ; Belon et al. [2004](#) ; Eizayaga et al. [2005](#) ;. Bellavite et al [2006b](#); Witt et al. [2007](#) ; Ruiz-Vega y Estevez Delgado [2008](#) ; Chirumbolo et al. [2009](#) ) -suggest que en la farmacología de alta dilución, no hay relación lineal o proporcional entre la concentración molecular de las sustancias activas y el efecto terapéutico. Hasta el momento no hay ninguna explicación teórica satisfactoria o unificador para estas demandas, aunque algunas hipótesis sugieren un papel de las estructuras y la dinámica del disolvente agua nano-heterogénea (o agua-etanol) en una escala mesoscópica (Arani et al. [1995](#) ; Del Giudice y Preparata [1998](#) ; Smith [2004](#) ) y / o de la epitaxia (Demangeat et al. [2004](#) ;. Elia et al [2004](#) ,[2007](#) ; Mastrangelo [2007](#) ; Rao et al. [2007](#) ; Chaplin [2007](#) ; Demangeat [2009](#) ).

Un posible objetivo neurológico de *G. sempervirens* en altas diluciones se ha identificado recientemente por estudios que muestran que gelsemina, el componente principal de *G. sempervirens* , estimula la biosíntesis de alopregnanolona (3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -THP) en el sistema nervioso central de ratas a través de la activación de receptores para la glicina (Gly-R) (Venard et al. [2008](#) ). Más recientemente, el mismo grupo ha demostrado que la 5C y 9C diluciones de *G. sempervirens* y de gelsemina puro estimulan la síntesis de 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -THP tanto en el hipocampo y la médula espinal in vitro (Venard et al. [2009](#) ). Una observación particularmente interesante es que los efectos de *G. sempervirens* in vitro fueron bloqueados por esticnina, un inhibidor selectivo conocido de los receptores glicinérgicas. Debido alopreganolone sintetizados endógenamente en el sistema nervioso central modula significativamente la ansiedad o mecanismos nociceptivos a través de paracrinos y autocrinos modos (Le Melledo y Baker [2004](#) ; Birzniece et al. [2006](#) ; Papadopoulos et al. [2006](#) ;. Patte-Mensah et al [2006](#) ), sustancias capaces 3 $\alpha$  de la estimulación, la formación de 5 $\alpha$ -THP en las redes neuronales parece potencialmente interesantes para el desarrollo de terapias ansiolíticos o analgésicos eficaces.

Para resumir, los resultados de este trabajo muestran que algunas diluciones dentro del intervalo de dosis investigado de *G. sempervirens* ejercen un efecto de tipo ansiolítico en los ratones en la luz de prueba / oscuro y, en menor medida, en la prueba de campo abierto. Se encontró que el remedio para aumentar la tendencia exploratoria en entornos nuevos, sin ningún efecto sobre la coordinación motora o sedación de los animales. Este es uno de los primeros remedios tradicionales, que ya se utiliza empíricamente en pacientes humanos para los síntomas correlacionados con la ansiedad, que se han demostrado eficaces en animales de experimentación y para el cual existen algunas hipótesis en cuanto a sus dianas moleculares en el sistema nervioso central.



## Expresiones de gratitud

Este trabajo fue apoyado por becas de Laboratorios Boiron srl (Milán, Italia) a la Universidad de Verona y desde el Ministerio de Universidades e Investigación de Ciencia y Tecnología. Agradecemos al Dr. Paola D'Incau para llevar a cabo la codificación de las muestras de ensayo y el Dr. Jennifer Pascali para la realización de cromatografía de gases y espectrometría de masas en muestras de medicamentos.

**Los conflictos de intereses** Los autores declaran que no tienen intereses en conflicto.

**El acceso abierto** Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia Creative Commons Reconocimiento No comercial que permite cualquier uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que el autor original (s) y la fuente se acreditan.

## Referencias

- Allgulander C, Bandelow B, Hollander E, Montgomery SA, Nutt DJ, Okasha A, Pollack MH, Stein DJ, SWINSON RP. WCA recomendaciones para el tratamiento a largo plazo del trastorno de ansiedad generalizada. *SNC Spectr*. 2003; 8 : 53-61. [ [PubMed](#) ]
- Arani R, Bono I, E Giudice, coherencia Preparata G. QED y la termodinámica del agua. *Int J Mod Phys*. 1995; B9 : 1813-1841.
- Bandelow B, Zohar J, Hollander E, Kasper S, Moller HJ. Federación Mundial de Sociedades de Psiquiatría Biológica (WFSBP) Directrices para el tratamiento farmacológico de la ansiedad, trastornos de estrés postraumático y obsesivo-compulsivos. *Mundial J Biol Psychiatry*. 2002; 3 : 171-199. doi: 10.3109 / 15622970209150621. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Barbancey J. Pratique Homeopática en psico-pathologie, Tomo II. Paris: Editions SIMILIA; 1987.
- Bellavite P, Conforti A, Ortolani R. Inmunología y homeopatía. 3. Los estudios experimentales en modelos animales. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2006; 3 : 171-186. doi: 10.1093 / ECAM / nel016. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Bellavite P, Conforti A, Pontarollo F, Ortolani R. Inmunología y homeopatía. 2. Las células del sistema inmune y la inflamación. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2006; 3 : 13-24. doi: 10.1093 / ECAM / nek018. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Bellavite P, Magnani P, Marzotto M, Conforti A. Ensayos de remedios homeopáticos en roedores modelos de comportamiento y psicopatológicos. *Homeopatía*. 2009; 98 : 208-227. doi: 10.1016 / j.homp.2009.09.005. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Bellavite P, Magnani P, Zanolin E, Conforti A (2009b) dosis homeopáticas de *sempervirens Gelsemium* mejorar el comportamiento de los ratones en respuesta a entornos nuevos. *Evid. Basado. Complementar Alternativa. Medicina*. doi: 10.1093 / ECAM / nep139 [ [Artículo libre de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ]
- Belon P, Cumps J, Ennis M, Mannaioni PF, Roberfroid M, Sainte-Laudy J, Wiegant FA. Diluciones de histamina modulan la activación de basófilos.



- Inflamm Res. 2004; 53 : 181-188. doi: 10.1007 / s00011-003-1242-0. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Belougne-Malfatti E, Agejrouf O, Doutremepuich F, Belon P, Doutremepuich C. Combinación de dos dosis de ácido acetilsalicílico: estudio experimental de trombosis arterial. *Thromb Res.* 1998; 90 : 215-221. doi: 10.1016 / S0049-3848 (98) 00051-6. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Belzung C, Griebel G. medir el comportamiento normal y patológico ansiedad-como en ratones: una revisión. *Behav Brain Res.* 2001; 125 : 141-149. doi: 10.1016 / S0166-4328 (01) 00291-1. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Bilkei-Gorzo A, Gyertyan I, Levay G. ansiedad mCPP-inducida en la caja de luz-oscuridad en ratas-un nuevo método para el cribado de actividad ansiolítica. *Psicofarmacología (Berl)* 1998; 136 : 291-298. doi: 10.1007 / s002130050568. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Binsard AM. Etude psico-pharmacologique d'Ignatia et autre avec un acercamiento polychreste. *Ann P. Homéop* 1979; 21 : 369-378.
  - Binsard AM, Guillemain J, Platel A, Savini CE, Tetau M. Etude psico-pharmacologique de diluciones Homeopáticas de Gelsemium et d'Ignatia. *Ann P. Homéop* 1980; 22 : 35-50.
  - Birzniece V, Backstrom T, Johansson IM, Lindblad C, Lundgren P, Lofgren M, Olsson T, Ragagnin G, Taube M, Turkmen S, Wahlstrom G, Wang MD, Wihlback AC, Zhu D. neuroactivos efectos de los esteroides sobre las funciones cognitivas con una centrarse en los sistemas de serotonina y GABA. *Brain Res Rev.* 2006; 51 : 212-239. doi: 10.1016 / j.brainresrev.2005.11.001. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Boericke W. *Materia medica con el repertorio.* 9. Santa Rosa: Boericke y Tafel Inc; 1927.
  - Bourin M, Hascoet M. La luz de ratón / prueba de la caja oscura. *Eur J Pharmacol.* 2003; 463 : 55-65. doi: 10.1016 / S0014-2999 (03) 01274-3. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Bourin M, Petit-Demouliere B, Dhonnchadha BN, modelos Hascoet M. animales de ansiedad en ratones. *Fundam Clin Pharmacol.* 2007; 21 : 567-574. doi: 10.1111 / j.1472-8206.2007.00526.x. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Bousta D, Soulimani R, Jarmouni I, Belon P, Falla J, Foment N, Younos C. neurotrópico, efectos inmunológicos y gástricos de dosis bajas de *Atropa belladonna* L., *Gelsemium sempervirens* L. y Poumon histamina en ratones estresados. *J Ethnopharmacol.* 2001; 74 : 205-215. doi: 10.1016 / S0378-8741 (00) 00346-9. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Brown V, el análisis de Ennis M. Flow-citometría de activación de basófilos: inhibición por la histamina en concentraciones convencionales y homeopáticos. *Inflamm Res.* 2001; 50 (2): S47-S48. [ [PubMed](#) ]
  - Carpintero JS, Neal JG. Otras modalidades de medicina complementaria y alternativa: acupuntura, imanes, reflexología, y la homeopatía. *Am J Med.* 2005; 118 (Suppl 12B): 109-117. doi: 10.1016 / j.amjmed.2005.09.058. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Chaplin MF. La memoria del agua: una visión general. *Homeopatía.* 2007; 96 : 143-150. doi: 10.1016 / j.homp.2007.05.006. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Chen SW, Min L, Li WJ, Kong WX, Li JF, Zhang YJ. Los efectos del aceite esencial de angélica en tres pruebas murinos de la ansiedad. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004; 79 : 377-382. doi: 10.1016 / j.pbb.2004.08.017. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]

- Chirumbolo S, Brizzi M, Ortolani R, Vella A, Bellavite P. La inhibición de CD203c membrana sobre regulación en los basófilos humanos por altas diluciones de histamina: un estudio de replicación controlada. *Inflamm Res*. 2009; 58 : 755-764. doi: 10.1007 / s00011-009-0044-4. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Choleric E, Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS. Un análisis etológico detallada de la prueba de campo abierto ratón: efectos de diazepam, clordiazepóxido y una frecuencia extremadamente baja pulsadas campo magnético. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001; 25 : 235-260. doi: 10.1016 / S0149-7634 (01) 00011-2. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Clemente Y, Joubert C, Kopp C, Lepicard EM, Venault P, Misslin R, Cadot M, Chapouthier G. ansiedad en ratones: un principal estudio de análisis de componente. *Plast neuronal*. 2007; 2007 : 35457. doi: 10.1155 / 2007/35457. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Cloos JM, Ferreira V. El uso actual de las benzodiazepinas en los trastornos de ansiedad. *Curr Opin Psiquiatría*. 2009; 22 : 90-95. doi: 10.1097 / YCO.0b013e32831a473d. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Cole JC, Rodgers RJ. Evaluación etológicas de los efectos del tratamiento buspirona aguda y crónica en la prueba del laberinto en cruz elevado murino: comparación con haloperidol. *Psicofarmacología (Berl)* 1994; 114 : 288-296. doi: 10.1007 / BF02244851. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Costall B, Jones BJ, Kelly ME, Naylor RJ, Tomkins DM. Exploración de los ratones en una caja de prueba de blanco y negro: validación como modelo de ansiedad. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989; 32 : 777-785. doi: 10,1016 / 0091-3057 (89) 90033-6. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Crawley J, Goodwin FK. Informe preliminar de un modelo simple de comportamiento de los animales de los efectos ansiolíticos de las benzodiazepinas. *Pharmacol Biochem Behav*. 1980; 13 : 167-170. doi: 10,1016 / 0091-3057 (80) 90067-2. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Araujo año fiscal, MI Silva, Moura BA, Oliveira GV, Leal LK, Vasconcelos SM, Viana GS, MO Moraes, Sousa FC, Macedo DS. Efectos sobre el sistema nervioso central del aceite esencial de las hojas de *Alpinia zerumbet* en ratones. *J Pharm Pharmacol*. 2009; 61 : 1521-1527. doi: 10.1211 / JPP / 61.11.0012. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Giudice E, la electrodinámica Preparata G. Coherencia en agua. En: Schulte J, Endler C, editores. *La investigación fundamental en la dilución de ultra y la homeopatía*. Dordrecht: Kluwer; 1998. pp. 89-100.
- Demangeat JL. RMN de relajación de protones del agua en diluciones acuosas ultra altas sin calefacción y calentadas de histamina: evidencia para una organización supramolecular de aire dependiente de agua. *J Líquidos Mol*. 2009; 144 : 32-39. doi: 10.1016 / j.molliq.2008.07.013. [ [Referencia cruzada](#) ]
- Demangeat JL, Gries P, Poitevin B, Droesbeke JJ, Zahaf T, Maton F, PIERART C, Muller RN. De campo bajo protón del agua RMN de relajación longitudinal en soluciones acuosas diluidas de ultrahighly sílice-lactosa preparada en el material de vidrio para uso farmacéutico. *Appl Magn Reson*. 2004; 26 : 465-481. doi: 10.1007 / BF03166577. [ [Referencia cruzada](#) ]
- Demarque D, Jouanny J, Poitevin B, Saint-Jean Y (1995) *Pharmacologie et matière médicale homéopathique*, segunda ed. Boiron, CEDH, Lyon, Francia
- Eizayaga FX, Aguejof O, Belon P, agregación Doutremepuich C. plaquetas en la hipertensión portal y su modificación por dosis ultra-bajas de aspirina.

- Pathophysiol Haemost Thromb. 2005; 34 : 29-34. doi: 10.1159 / 000088545. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Elia V, Baiano S, Duro I, Napoli E, Niccoli M, Nonatelli L. propiedades Permanente físico-químicas de soluciones acuosas extremadamente diluidas de medicamentos homeopáticos. Homeopatía. 2004; 93 : 144-150. doi: 10.1016 / j.homp.2004.04.004. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Elia V, E Napoli, 'memoria del agua' Germano R. El: un enigma casi descifrado. Las estructuras disipativas en soluciones extremadamente diluidas acuosas. Homeopatía. 2007; 96 : 163-169. doi: 10.1016 / j.homp.2007.05.007. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Fukushiro DF, Benetti LF, Josino FS, Oliveira GP, Fernandes MD, Saito LP, Uehara RA, Wuo-Silva R, Oliveira CS, Frussa-Filho R (2009) novedad del medio ambiente y la iluminación modificar inducida por etanol en campo abierto efectos de comportamiento en ratones. Pharmacol.Biochem.Behav. doi: 10.1016 / j.pbb.2009.12.001 [ [PubMed](#) ]
  - Greeson JM, Rosenzweig S, SC Halbert, Cantor es decir, Keener MT, Brainard GC. La investigación en medicina integrativa en un centro médico académico: las características del paciente y los resultados relacionados con la salud calidad de vida. J Altern Complement Med. 2008; 14 : 763-767. doi: 10.1089 / acm.2008.0114. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Griebel G, Belzung C, Misslin R, Vogel E. El paradigma de exploración libre: un método eficaz para medir el comportamiento neophobic en ratones y probar potencial neofobia reducción de drogas. Behav Pharmacol. 1993; 4 : 637-644. doi: 10.1097 / 00008877-199312000-00009. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Grundmann O, Nakajima JI, Seo S, efectos Butterweck V. contra la ansiedad de *Apocynum venetum* L. en la prueba de laberinto elevado en cruz. J Ethnopharmacol. 2007; 110 : 406-411. doi: 10.1016 / j.jep.2006.09.035. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Guermonprez M. Homéopathie, Principios-Clinique-técnicas. París: CEDH; 2006.
  - Guethlin C, Walach H, Naumann J, Bartsch HH, Rostock M. Características de los pacientes de cáncer utilizando la homeopatía en comparación con aquellos en el cuidado convencional: un estudio de sección transversal. Ann Oncol. 2009 [ [PubMed](#) ]
  - Guillemain J, Rousseau A, Dorfman P, Tetau M. Recherche en Psychopharmacologie. Cah Biother. 1989; 103 : 53-66.
  - Harada K, Aota M, Inoue T, Matsuda R, Mihara T, Yamaji T, Ishibashi K, la actividad Matsuoka N. ansiolíticos de una novela potente de serotonina 5-HT (2C) antagonista del receptor FR260010: una comparación con diazepam y buspirona. Eur J Pharmacol. 2006; 553 : 171-184. doi: 10.1016 / j.ejphar.2006.09.042. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Hascoet M, M Bourin, Dhonnchadha BA. El ratón paradigma de luz-oscuridad: una revisión. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2001; 25 : 141-166. doi: 10.1016 / S0278-5846 (00) 00151-2. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Irwin RE, Adler LS. Las correlaciones entre los rasgos asociados con la resistencia a los herbívoros y la polinización: implicaciones para la polinización y robar el néctar en una planta heterostila. Am J Bot. 2006; 93 : 64-72. doi: 10.3732 / ajb.93.1.64. [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Un Khan, Haleem DJ. La tolerancia en el perfil ansiolítico siguiente repitió la administración de diazepam, pero no buspirona se asocia con una disminución

en la capacidad de respuesta de los receptores 5-HT-1A postsinápticos. *Acta Biol Hung.* 2007; 58 : 345-357. doi: 10.1556 / ABiol.58.2007.4.2. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]

- Lader M. Eficacia de las benzodiazepinas: ¿funcionan o no? *Experto Rev Neurother.* 2008; 8 : 1189-1191. doi: 10.1586 / 14737175.8.8.1189. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Lai CK, Chan YW. Confirmación de envenenamiento gelsemium por análisis específico de alcaloides gelsemium tóxicos en orina. *J Anal Toxicol.* 2009; 33 : 56-61. [ [PubMed](#) ]
- Lamprea MR, Cárdenas FP, Setem J, S. Morato respuestas Thigmotactic en un campo abierto. *Braz J Med Biol Res.* 2008; 41 : 135-140. doi: 10.1590 / S0100-879X2008000200010. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Melledo JM, Baker G. papel de la progesterona y otros esteroides neuroactivos en trastornos de ansiedad. *Experto Rev Neurother.* 2004; 4 : 851-860. doi: 10.1586 / 14737175.4.5.851. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Mamtani R, Cimino A. Una introducción de la medicina complementaria y alternativa y su relevancia en el tratamiento de problemas de salud mental. *P. psychiatr* 2002; 73 : 367-381. doi: 10.1023 / A: 1020472218839. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Marotta D, Marini A, Banaudha K, Maharaj SV, Jonas WB. Efectos no lineales de glutamato y KCl en la toxicidad del glutamato en las neuronas cerebelares de rata cultivadas. *Int J Neurosci.* 2003; 113 : 491-502. doi: 10.1080 / 00207450390162245. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Mastrangelo D. Hormesis, epitaxia, la estructura del agua líquida, y la ciencia de la homeopatía. *Med Sci Monit.* 2007; 13 : SR1-SR8. [ [PubMed](#) ]
- Mathie RT, Robinson TW. Los resultados de la prescripción homeopática en la práctica médica: una, la investigación orientada, estudio piloto prospectivo. *Homeopatía.* 2006; 95 : 199-205. doi: 10.1016 / j.homp.2006.06.002. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Merali Z, Levac C, Anisman H. Validación de un simple paradigma, ethologically relevante para la evaluación de la ansiedad en ratones. *Biol Psiquiatría.* 2003; 54 : 552-565. doi: 10.1016 / S0006-3223 (02) 01827-9. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Mi XJ, Chen SW, Wang WJ, Wang R, Zhang YJ, Li WJ, Li YL. efecto ansiolítico de paeonol en ratones. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005; 81 : 683-687. doi: 10.1016 / j.pbb.2005.04.016. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Miller LG, Koff JM. Interacción de los sitios centrales y periféricos de benzodiazepina en la tolerancia a benzodiazepina y la interrupción. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1994; 18 : 847-857. doi: 10.1016 / 0278-5846 (94) 90101-5. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Morgan AJ, Jorm AF. Resultados de los esfuerzos de autoayuda en los trastornos de ansiedad. *Resultados de Expert Rev Rev Pharmacoecon Res.* 2009; 9 : 445-459. doi: 10.1586 / erp.09.47. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Papadopoulos V, Lecanu L, Brown RC, Han Z, Yao ZX. receptor de benzodiazepina de tipo periférico en la biosíntesis de neuroesteroides, neuropatología y trastornos neurológicos. *Neurociencia.* 2006; 138 : 749-756. doi: 10.1016 / j.neuroscience.2005.05.063. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Patte-Mensah C, Kibaly C, Boudard D, Schaeffer V, Begle A, Saredi S, Meyer L, Mensah-Nyagan AG. Dolor neurogénico y la síntesis de esteroides en la

- médula espinal. *J Mol Neurosci*. 2006; 28 : 17-31. doi: 10.1385 / JMN: 28: 1: 17. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- Peredery O, Persinger MA. Tratamiento a base de plantas después de la inducción post-convulsión en la rata por la pilocarpina litio: *Scutellaria lateriflora* (escutelaria), *sempervirens Gelsemium* (Gelsemium) y *Datura stramonium* (estramonio) puede prevenir el desarrollo de convulsiones espontáneas. *Phytother Res*. 2004; 18 : 700-705. doi: 10.1002 / ptr.1511. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Pilkington K, Kirkwood G, Rampas H, Fisher P, Richardson J. Homeopatía para los trastornos de ansiedad y de la ansiedad: una revisión sistemática de la investigación. *Homeopatía*. 2006; 95 : 151-162. doi: 10.1016 / j.homp.2006.05.005. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Pilkington K, Rampas H, Richardson J. medicina complementaria para la depresión. *Experto Rev Neurother*. 2006; 6 : 1741-1751. doi: 10.1586 / 14737175.6.11.1741. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Pogorelov VM, Lanthorn TH, Savelieva KV. El uso de una plataforma en un campo abierto automatizado para mejorar la evaluación de los comportamientos similares a la ansiedad en ratones. *J Neurosci Methods*. 2007; 162 : 222-228. doi: 10.1016 / j.jneumeth.2007.01.015. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Prut L, Belzung C. El campo abierto como un paradigma para medir los efectos de los fármacos sobre comportamientos similares a la ansiedad: una revisión. *Eur J Pharmacol*. 2003; 463 : 3-33. doi: 10.1016 / S0014-2999 (03) 01272-X. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Ramos A, E Pereira, Martins GC, Wehrmeister TD, Izidio GS. Integrando el campo abierto, elevado laberinto elevado y la luz / caja oscura para evaluar diferentes tipos de comportamientos emocionales en un solo ensayo. *Behav Brain Res*. 2008; 193 : 277-288. doi: 10.1016 / j.bbr.2008.06.007. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Rao ML, Roy R, Bell IR, Hoover R. El papel determinante de la estructura (incluyendo la epitaxia) en la plausibilidad de la homeopatía. *Homeopatía*. 2007; 96 : 175-182. doi: 10.1016 / j.homp.2007.03.009. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Ruiz-Vega G, Estevez-Delgado G (2008) de modelado no linealidad de ultra-diluciones: la histamina perturbaciones caso. En: Bonamin LV Señales (ed) e imágenes. Contribuciones y contradicciones sobre la investigación de alta dilución. Dordrecht: Springer Science, pp 67-82
  - Sainte-Laud J, Belon P. La inhibición de la activación de basófilos por la histamina: un modelo sensible y reproducible para el estudio de la actividad biológica de diluciones altas. *Homeopatía*. 2009; 98 : 186-197. doi: 10.1016 / j.homp.2009.09.009. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Schosser A, Kasper S. El papel de la farmacogenética en el tratamiento de la depresión y los trastornos de ansiedad. *Int Clin Psychopharmacol*. 2009; 24 : 277-288. doi: 10.1097 / YIC.0b013e3283306a2f. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Schun Y, Cordell GA. Esteroides citotóxicos de *sempervirens Gelsemium* . *J Nat Prod*. 1987; 50 : 195-198. doi: 10.1021 / np50050a012. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Shimada T, Matsumoto K, Osanai M, Matsuda H, Terasawa K, Watanabe H. La luz de prueba transición modificado / oscuridad en ratones: evaluación de



- fármacos ansiolíticos y ansiogénicos clásicos y putativos. *Gen Pharmacol.* 1995; 26 : 205-210. [ [PubMed](#) ]
- Simon P, Dupuis R, Costentin J. thigmotaxis como un índice de la ansiedad en ratones. Influencia de las transmisiones dopaminérgicas. *Behav Brain Res.* 1994; 61 : 59-64. doi: 10.1016 / 0166-4328 (94) 90008-6. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Smith CW. Quanta y los efectos de coherencia en los sistemas de agua y de vida. *J Altern Complement Med.* 2004; 10 : 69-78. doi: 10.1089 / 107555304322848977. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Sukul NC, Bala SK, Bhattacharyya B. efectos cataleptogenic prolongado de medicamentos homeopáticos potenciadas. *Psicofarmacología (Berl)* 1986; 89 : 338-339. doi: 10.1007 / BF00174371. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Thompson LJ, Frazier K, Stiver S, Styer E. intoxicaciones animales múltiple asociados con *Carolina de jazmín* ( *sempervirens Gelsemium* ) ingestiones. *Vet Hum Toxicol.* 2002; 44 : 272-273. [ [PubMed](#) ]
  - Thompson EA, Mathie RT, Baitson ES, Barron SJ, Berkovitz SR, marcas M, Fisher P, Kirby TM, Leckridge RW, Mercer SW, Nielsen HJ, Ratsey DH, Reilly D, Roniger H, Whitmarsh TE. Hacia el establecimiento de normas para los resultados informados por los pacientes en los hospitales homeopáticos NHS. *Homeopatía.* 2008; 97 : 114-121. doi: 10.1016 / j.homp.2008.06.005. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Valnet J. *Phytothérapie.* París: Maloine; 1992.
  - Vasconcelos SM, SR Lima, Soares PM, Assreuy AM, Sousa FC, Lobato RF, Vasconcelos GS, Santi-T Gadelha, Bezerra EH, Cavada BS, Patrocínio MC. Acción central de *Araucaria angustifolia* lectina de la semilla en ratones. *Epilepsia Behav.* 2009; 15 : 291-293. doi: 10.1016 / j.yebh.2009.05.002. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Venard C, Boujedaini N, Belon P, Mensah-Nyagan AG, Patte-Mensah C. regulación de la biosíntesis de neuroesteroides alopregnanolona en la médula espinal de rata por glicina y el alcaloide análogos de estricnina y gelsemina. *Neurociencia.* 2008; 153 : 154-161. doi: 10.1016 / j.neuroscience.2008.02.009. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Venard C, Boujedaini N, Mensah-Nyagan AG, Patte-Mensah C (2009) Análisis comparativo de gelsemina y *sempervirens Gelsemium* la actividad en la formación de neuroesteroides alopregnanolona en la médula espinal y el sistema límbico. *Evid Based Complemento Alternat Med.* doi: 10.1093 / ECAM / nep083 [ [Artículo libre de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ]
  - Walsh RN, Cummins AR. La prueba de campo abierto: una revisión crítica. *Psychol Bull.* 1976; 83 (3): 482-504. doi: 10.1037 / 0033-2909.83.3.482. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Witt CM, Bluth M, Albrecht H, Weissshuhn TE, Baumgartner S, Willich SN. La evidencia in vitro para un efecto de altas potencias-a homeopáticos revisión sistemática de la literatura. *Complementar Ther Med.* 2007; 15 : 128-138. doi: 10.1016 / j.ctim.2007.01.011. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
  - Yamauchi M, Dostal J, Kimura H, Strohl KP. Efectos de buspirona en el comportamiento ventilatoria posthypoxic en el C57BL / 6J y A / J cepas de ratón. *J Appl Physiol.* 2008; 105 : 518-526. doi: 10.1152 / japplphysiol.00069.2008. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]



- R Young, Johnson DN. Comparación de las rutas de administración y los efectos curso temporal de zacoprida y la buspirona en ratones utilizando una luz de prueba automatizado / oscuridad. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991; 40 : 733-737. doi: 10,1016 / 0091-3057 (91) 90077-F. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- R Young, Johnson DN. Una luz / oscuridad aparato totalmente automatizado útil para comparar agentes ansiolíticos. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991; 40 : 739-743. doi: 10,1016 / 0091-3057 (91) 90078-G. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]
- R Young, Batkai S, Dukat M, Glennon RA. TDIQ (5, 6, 7, 8-tetrahidro-1, 3-dioxolo [4, 5-g] isoquinolina) exhibe actividad de tipo ansiolítico en un ensayo de mármol-enterrar en ratones. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006; 84 : 62-73. doi: 10.1016 / j.pbb.2006.04.006. [ [PubMed](#) ] [ [Referencia cruzada](#) ]