



Efecto ansiolítico de la microinyección del flavonoide crisina en el hipocampo dorsal y la administración de alopregnanolona en ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar

Anxiolytic effect of microinjection of the flavonoid chrysin into the dorsal hippocampus and administration of allopregnanolone in ovariectomized Wistar rats

Gabriel GUILLÉN-RUIZ¹, Fabiola HERNÁNDEZ-LÓPEZ², Juan Francisco RODRÍGUEZ-LANDA³, Jonathan CUETO-ESCOBEDO⁴.

¹ Programa de Investigadoras e Investigadores por México, SECIHTI, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. * gguillen@uv.mx

² Unidad de Medicina Familiar No. 66, Instituto Mexicano del Seguro Social, Xalapa, Veracruz, México.

³ Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.

⁴ Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.

Presentación Poster 26

ABSTRACT

Introduction. Menopause is characterized by a gradual decline in gonadal hormones such as estradiol, progesterone, and allopregnanolone. Surgical menopause occurs when the ovaries are removed for medical reasons and gonadal hormones abruptly decrease, predisposing to the development of anxiety ^[1]. Experimentally, surgical menopause in rodents allows us to study the neurobiological substrate of anxiety and explore new treatment options. Furthermore, the dorsal hippocampus is involved in the anxiety response and is a site of action for anxiolytic drugs. Microinjection of midazolam, a GABAergic agonist, into the dorsal hippocampus produces anxiolytic effects in rats ^[2], similarly to allopregnanolone. In consistency, systemic administration of chrysin to Wistar rats 12 weeks post-ovariectomy produces anxiolytic effects ^[3], suggesting that chrysin may be a natural alternative to treat anxiety in surgical menopause, however, the neuroanatomical substrate involved in the anxiolytic effect of chrysin is unknown. **Objective.** Evaluate the effect of chrysin administration in the dorsal hippocampus and the possible pharmacological interaction with allopregnanolone. **Method.** A cross-sectional study was conducted with eight independent groups of Wistar rats of 200-250g and 3 months of age, one week post-ovariectomy and unilaterally implanted in the left dorsal hippocampus ^[4]. The Control group (n=8) received cyclodextrin 35%, i.p. (V1), and one hour later microinjection of cyclodextrin 35% (V2) *in situ*. Three groups received V1 i.p., and one hour later *in situ* microinjection of 0.25 (n=7), 0.50 (n=8) or 1.0 µg/rat (n=8) of chrysin, respectively. The remaining four groups received 2 mg/kg of allopregnanolone (ALO) i.p., and one hour later, they received *in situ* V2 (n=8), 0.25 (n=8), 0.50 (n=8) or 1.0 (n=8) µg/rat, as appropriate. All microinjections were



performed acutely in a volume of 0.3 μ l with a rate of 0.06 μ l/min, the systemic volume was 1 ml/kg. After administration, the elevated plus maze and open field (5 min. each) behavioral tests were evaluated [4]. Data were analyzed by one-way ANOVA for independent groups, when $p \leq 0.05$ the Student-Newman-Keuls *post hoc* test was used. **Results.** Microinjection of 0.50 μ g/rat of chrysin increased the time into the open arms similar to the systemic administration of 2 mg/kg of allopregnanolone. The combination of 0.25 μ g/rat of chrysin with allopregnanolone showed similar effects on this variable, however, this effect was produced by allopregnanolone and not by the combination of treatments, since the individual administration of 0.25 and 1.0 μ g/rat of chrysin did not produce any effect, suggesting biphasic effects of chrysin on this brain structure. Finally, the anxiolytic-like effect of 0.5 μ g/rat of chrysin was abolished by prior administration of allopregnanolone (Figure 1). This lack of effect in the combination of treatments may be associated with changes in the affinity or expression of GABAA receptor subunits. None of the treatments modified locomotor activity. **Conclusion.** The dorsal hippocampus participates in the anxiolytic-like effect of the flavonoid chrysin, and there is an interaction between the flavonoid and allopregnanolone at the experimental level.

Key words:

Anxiolytic, chrysin, dorsal hippocampus, ovariectomy, allopregnanolone, surgical menopause.

RESUMEN

Introducción. La menopausia se caracteriza por el declive gradual de hormonas gonadales como estradiol, progesterona y alopregnanolona. La menopausia quirúrgica ocurre cuando por indicaciones médicas se extirpan los ovarios y disminuyen abruptamente las hormonas gonadales, predisponiendo al desarrollo de ansiedad [1]. Experimentalmente, la menopausia quirúrgica en roedores permite estudiar el sustrato neurobiológico de la ansiedad y explorar nuevas opciones de tratamientos. También, el hipocampo dorsal participa en la respuesta de ansiedad y es sitio de acción de fármacos ansiolíticos. La microinyección de midazolam, agonista GABAérgico, en hipocampo dorsal, producen efectos ansiolíticos en ratas [2], de manera similar a alopregnanolona. En consistencia, la administración sistémica de crisina a ratas Wistar con 12 semanas post-ovariectomía produce efectos ansiolíticos [3], sugiriendo que crisina puede ser una alternativa natural para tratar la ansiedad en la menopausia quirúrgica, sin embargo, se desconoce el sustrato neuroanatómico involucrado en el efecto ansiolítico de crisina. **Objetivo.** Evaluar el efecto de la administración de crisina en hipocampo dorsal y la posible interacción farmacológica con alopregnanolona. **Método.** Se realizó un estudio transversal con ocho grupos independientes de ratas Wistar de 200-250g y 3 meses de edad, con una semana post-ovariectomía e implantadas unilateralmente en el hipocampo dorsal izquierdo [4]. El Control (n=8), recibió ciclodextrina 35%, i.p. (V1), y una hora después la microinyección de ciclodextrina 35% (V2) *in situ*. Tres grupos recibieron V1, i.p., y una hora después la microinyección *in situ* de 0.25 (n=7), 0.50 (n=8) o 1.0 μ g/rata (n=8) de crisina, respectivamente. Los cuatro grupos restantes recibieron 2 mg/kg del alopregnanolona (ALO) i.p., y una hora después, recibieron *in situ* V2 (n=8),



0.25 (n=8), 0.50 (n=8) o 1.0 (n=8) $\mu\text{g/rata}$, según correspondiera. Todas las microinyecciones se realizaron de manera aguda en un volumen de 0.3 μl con velocidad de 0.06 $\mu\text{l/min}$, el volumen sistémico fue de 1 ml/kg. Finalizada la administración se evaluaron las pruebas conductuales laberinto de brazos elevados y campo abierto (5 min. c/u) [4]. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía para grupos independientes, cuando $p \leq 0.05$ se utilizó la *post hoc* Student-Newman-Keuls. **Resultados.** La microinyección de 0.50 $\mu\text{g/rata}$ de crisina incrementó el tiempo en los brazos abiertos similar a la administración sistémica de 2 mg/kg de alopregnanolona. La combinación de 0.25 $\mu\text{g/rata}$ de crisina con alopregnanolona mostró efectos similares en esta variable, sin embargo, este efecto es producido por alopregnanolona y no por la combinación de tratamientos, ya que la administración individual de 0.25 y 1.0 $\mu\text{g/rata}$ de crisina no produjeron ningún efecto, sugiriendo efectos bifásicos de crisina esta estructura cerebral. Finalmente, el efecto ansiolítico de 0.5 $\mu\text{g/rata}$ de crisina es cancelado por la administración previa de alopregnanolona (Figura 1), esta ausencia de efecto en la combinación de tratamientos puede asociarse con cambios en la afinidad o expresión de las subunidades del receptor GABA_A. Ninguno de los tratamientos modificó la actividad locomotriz. **Conclusión.** El hipocampo dorsal participa en el efecto ansiolítico del flavonoide crisina, y existe una interacción entre el flavonoide y la alopregnanolona a nivel experimental.

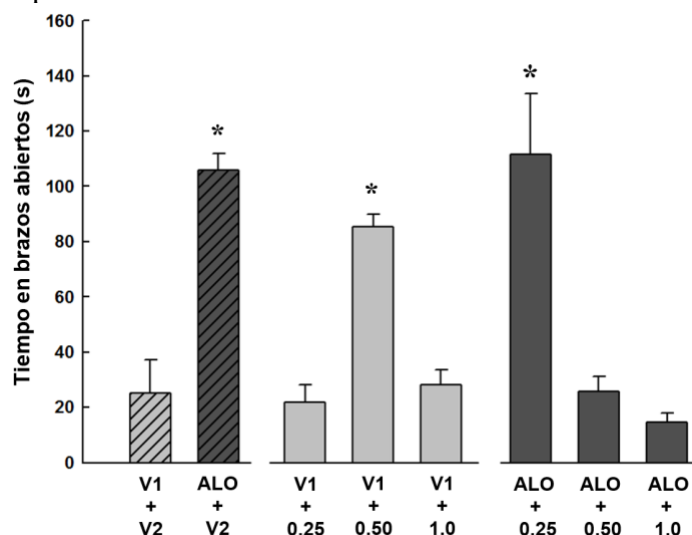


Figura 1. Laberinto de brazos elevados. Tiempo de permanencia en los brazos abiertos, la dosis intermedia de crisina produjo efecto ansiolítico de manera similar a alopregnanolona, efecto cancelado por la administración combinada. * $p < 0.05$ vs V1+V2. V1, vehículo 1; V2, vehículo 2; ALO, alopregnanolona 2 mg/kg; 0.25, 0.50 y 1.0, crisina de 0.25, 0.50 y 1.0 $\mu\text{g/rata}$ de crisina. ANOVA 1 vía, *post hoc* Student-Newman-Keuls.

Palabras clave:



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1pp26>



Ansiolítico, crisis, hipocampo dorsal, Ovariectomía, alopregnanolona, menopausia quirúrgica.

Agradecimientos/Acknowledgements

Proyecto SIREI Reg. DGI: 266502025170 otorgado al Dr. Juan Francisco Rodríguez Landa. Proyecto IxM-SECIHTI ID: 6943 otorgado al Dr. Gabriel Guillén Ruiz.

Referencias/References

- [1] STUTE, P. y LOZZA-FIACCO, S. (2022). Strategies to Cope with Stress and Anxiety During the Menopausal Transition. *Maturitas* **166**: 1-13. [\[DOI\]](#)
- [2] ENGIN, E. y TREIT, D. (2007). The Role of Hippocampus in Anxiety: Intracerebral Infusion Studies. *Behavioural Pharmacology* **18**(5-6). [URL](#)
- [3] RODRÍGUEZ-LANDA, J. F., *et al.* (2019). Chrysin (5,7-Dihydroxyflavone) Exerts Anxiolytic-Like Effects through Gabaa Receptors in a Surgical Menopause Model in Rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **109**: 2387-2395. [\[DOI\]](#)
- [4] RODRÍGUEZ-LANDA, J. F., *et al.* (2022). Gabaa/Benzodiazepine Receptor Complex in the Dorsal Hippocampus Mediates the Effects of Chrysin on Anxiety-Like Behaviour in Female Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* **Volume 15 - 2021**. [URL](#)