

EFFECTO DE LA KAVA-KAVA EN LA CONDUCTA AGRESIVA DE PECES *BETTA SPLENDENS*: UNA TÉCNICA PARA LA PRÁCTICA DE LABORATORIO DE PREGRADO EN PSICOLOGÍA

PhD Mirari Elcoro y S.Ps.M Jenna Eagle *

RESUMEN

El uso de suplementos herbales como tratamiento de enfermedades y trastornos psicológicos es común en varias culturas y es un tópico de amplio interés en el salón de clase. La kava-kava es un extracto herbal empleado por sus efectos ansiolíticos y mejoradores del humor. A pesar de su accesibilidad y popularidad, se sabe poco acerca de su mecanismo de acción y efectos secundarios. Se examinaron los efectos de la kava-kava sobre la conducta agresiva en seis peces *Betta splendens*. Después de 5 hrs de exposición a una solución de kava-kava de 10µg/ml, se observó un decremento consistente en giros de 90°. Esta preparación experimental es flexible, económica y puede emplearse como ejercicio de laboratorio en cursos de pregrado en Psicología.

PALABRAS CLAVE: *Betta splendens*, conducta agresiva, kava-kava, psicología fisiológica.

Los suplementos herbales (e.g., valeriana como calmante) son frecuentemente considerados para tratamientos alternativos de enfermedades o trastornos psicológicos cuando se comparan con agentes farmacológicos (e.g., valium como calmante) (Wargovich, Woods, Hollis, y Zander, 2001). El tema del uso de agentes psicoactivos en el tratamiento de enfermedades es de gran interés en cursos de pregrado de Fisiología (Near y Martin, 2007). Un interés paralelo se evidencia

* Armstrong Atlantic State University

en estudiantes de Psicología, específicamente en el estudio de tratamientos de trastornos psicológicos. Las disciplinas de Fisiología y Psicología convergen en cursos tales como Psicología Fisiológica, Aprendizaje y Comportamiento, y Drogas y Comportamiento. Al menos el 40% de los estudiantes inscritos en el curso de Psicología Fisiológica y en Aprendizaje y Comportamiento en la Armstrong Atlantic State University (AASU, Savannah, GA, EE.UU.) durante los años 2008 y 2010, ha expresado interés en estos tratamientos alternativos. Estos estudiantes han escrito, específicamente, monografías sobre algunos de estos tratamientos y también han escrito críticas de artículos sobre tratamientos alternativos, entre ellos se encuentran los suplementos herbales. Algunos ejemplos de otros tratamientos alternativos son, la acupuntura y la meditación.

La kava-kava (de aquí en adelante kava) es un extracto de la raíz de *Piper methysticum* (pimienta intoxicante) ampliamente utilizada por los nativos de las islas del Pacífico en bebidas ceremoniales y otras celebraciones de tipo social. Los efectos de la kava han sido descritos como: narcóticos, soporíficos, anti-fatiga, ansiolíticos, afrodisíacos, hipnóticos y mejoradores del humor (Bilia, Scalise, Bergonzi y Vincieri, 2004; Thompson, Ruch y Hasenöhr, 2004; Wheatly, 2001). En los EE.UU. la kava está catalogada como un suplemento herbal y su acceso no está controlado por la Administración de Alimentos y Drogas (Food and Drug Administration, FDA). En el año 2002 el uso de la kava fue prohibido en Europa lo cual hizo que la FDA publicase un aviso a los consumidores en los EE.UU., basado en los efectos dañinos del uso de la kava a largo plazo (e.g., alteraciones gastrointestinales, daño hepático) (Bilia, Gallon y Vincieri, 2002).

A pesar de los efectos dañinos generados por el uso a largo plazo de la kava, este suplemento ha sido utilizado exitosamente en el tratamiento del estrés y la ansiedad (Wheatly, 2001), y de trastornos del humor (Thompson, Ruch y Hasenöhr, 2004; Volz y Keiser, 1997). Wheatley encontró que la severidad del estrés (medida por medio de un cuestionario suministrado antes y después del tratamiento) en 24 pacientes que sufrían de insomnio, se redujo con la administración de dosis diarias (120 mg) de kava durante seis semanas. Lehl (2004) también ha obtenido resultados similares a los de Wheatley en el tratamiento efectivo de la ansiedad, en pacientes con trastornos del sueño. Volz y Keiser utilizaron un extracto de kava (WS 1490) en 101 pacientes, que redujo síntomas de diversos trastornos de ansiedad (medida a través de la Escala Hamilton de Ansiedad, impresión clínica global, Inventario de Auto-Reporte de Síntomas- 90 Ítems Revisados, y Escala de Adjetivos relativos al Humor). En vista de estos y otros resultados similares obtenidos por Gastpar y Klimm (2003), la kava también ha sido considerada como alternativa a los antidepresivos tricíclicos y benzodiazepinas, en el tratamiento de trastornos de ansiedad. Adicionalmente a las aplicaciones previamente descritas, la kava ha sido utilizada como anestésico

efectivamente en humanos (Raduege, Kleshinski, Ryckman y Tezlaff, 2004) y ratas (Sullivan, Romm y Reilly, 2009).

Una de las ventajas que, presumiblemente, presenta la kava sobre las benzodiacepinas es que no ocasiona los mismos efectos secundarios. La kava ha promovido el funcionamiento cognitivo y ha incrementado la activación emocional (Thompson et al., 2004). Las capacidades antes mencionadas se ven afectadas de manera negativa por las benzodiacepinas (Bilia et al., 2002). Thompson et al. encontraron, también, que la kava incrementó el buen humor y, al mismo tiempo, redujo síntomas de ansiedad en personas que previamente habían demostrado tener esa característica por medio de un test de personalidad.

Algunos experimentos conducidos con animales (de aquí en adelante este término se referirá específicamente a animales, no a humanos) han proveído mejor entendimiento del mecanismo de acción y los efectos de la kava. Por ejemplo, Bruner y Anderson (2009) usaron ratas para examinar si la kava comparte algunas de las propiedades del ansiolítico clordiazepóxido (CDP). En estas investigaciones se empleó un procedimiento de discriminación con dos palancas accesibles en una caja operante. Diez opresiones de la palanca considerada correcta resultaron en el acceso a un reforzador. Se compararon dos grupos (cada uno compuesto de ocho ratas); un grupo en una dosis baja (300 mg/kg) y otro en una dosis alta (560 mg/kg). Las ratas que cumplieron con un criterio de discriminación fueron expuestas a dos condiciones de prueba (específicamente extinción, u omisión del reforzador). Antes de comenzar estas condiciones de prueba, las ratas recibieron una dosis de kava (baja o alta), CDP o anfetamina. A dosis altas, la kava sustituyó los efectos del CDP, pero algunas sufrieron complicaciones gastrointestinales. Dichos resultados fueron considerados sedativos y no ansiolíticos, especialmente evidenciado por las bajas tasas de respuesta (y, en ocasiones, cero respuestas) a dosis altas de kava.

Rex, Morgenstern y Fink (2002) usaron un laberinto en cruz elevado, técnica ampliamente utilizada para medir la ansiedad en roedores, para comparar los efectos de la kava (120, 180 y 240 mg/kg) y del diazepam (15 mg/kg) en ratas. El efecto ansiolítico en el laberinto en cruz elevado se observa cuando la rata pasa más tiempo en las ramas abiertas del laberinto que en las ramas cerradas. El número de entradas a las ramas abiertas también se ve incrementado cuando hay un efecto ansiolítico. La kava generó una curva dosis/respuesta en forma de U invertida en la cual la dosis intermedia, 180 mg/kg, produjo efectos ansiolíticos más altos que con las otras dos dosis. Cuando la dosis más alta fue administrada, se observaron indicadores relativos a mayor propensión a la toma de riesgo. Dichas observaciones corresponden a comportamientos tales como la exploración de las ramas cerradas, y estiramientos y asomos de la cabeza en

las ramas abiertas. De acuerdo a Rex et al., la kava posee propiedades similares a las del diazepam en las medidas obtenidas del laberinto en cruz elevado.

Ambos efectos, sedativos y ansiolíticos, fueron observados por Garrett, Basmadjian, Khan, Schaneberg y Seale (2003) en un experimento con ratones. Estos investigadores utilizaron un laberinto en cruz elevado y una caja de evasión con espejo (la latencia de entrada a la caja con espejo se ha empleado como un indicador de ansiedad, Toubas, Abla, Cao, Logan y Seale, 1990) para examinar los efectos de varias dosis de kava, diazepam y flumazenil (i.g., un antagonista competitivo de los receptores para benzodiazepinas). La kava y el diazepam compartieron propiedades ansiolíticas. El flumazenil, administrado junto a la kava en algunos ratones, y junto al diazepam en otros, bloqueó los efectos del diazepam, pero no los de la kava. De acuerdo a Garrett et al. estos resultados sugieren que el efecto de la kava quizá no comparte el mismo mecanismo de acción que el del diazepam, específicamente, que estos efectos no son mediados por el sitio de unión para las benzodiazepinas en el complejo del receptor GABA_A.

Debido al poco conocimiento existente acerca del mecanismo de acción de la kava y al incremento potencial de su uso como tratamiento alternativo de diversos trastornos psicológicos, es evidente que se requiere más investigación científica en esta área. El presente proyecto examinó los efectos de la kava sobre la respuesta agresiva de seis peces machos *Bettas splendens* (de aquí en adelante referidos como Bettas). Estos peces se conocen como *peces siameses de pelea* y son empleados como modelos para el estudio de la agresión en animales vertebrados (Bronstein, 1983). La respuesta agresiva en estos peces se evidencia con la presencia de otro pez de la misma especie y, también, con la presentación de un espejo, comúnmente utilizado en otras preparaciones de laboratorio, que refleja la imagen de otro pez (e.g., condicionamiento operante, Elcoro, Da Silva y Lattal, 2008; Wirth, Lattal y Hopko, 2003).

Por medio de una preparación experimental similar a la empleada en el presente proyecto, estudios previos han examinado los efectos de algunas drogas en dicha conducta agresiva. Algunas de estas drogas examinadas han sido el etanol (Galizio, Woodard y Keith, 1985) y la fluoxetina (Lynn et al. 2007). Galizio et al. encontraron una reducción consistente en la apertura de las branquias con una solución de 0.75 g % de etanol mientras que Lynn et al. (2007) observaron una reducción consistente en los giros de 90° con una solución de fluoxetina de 3 y 6 µ/ml.

En general, la agresión es característica de varios trastornos psicológicos (Nevels, Dehon, Alexander y Gontkovsky, 2010) y se ha relacionado con bajos niveles de serotonina (Seo, Patrick y Kennealy, 2008). La respuesta agresiva en Bettas aún no ha sido considerada en el estudio de la kava. A través de un ejercicio de laboratorio en un curso de pregrado de Fisiología, Lynn, Egar, Walker,

Sperry y Ramenofsky (2007) examinaron los efectos de la fluoxetina (i.g., un agonista de la serotonina ampliamente utilizado como tratamiento para la depresión y la ansiedad) en la respuesta agresiva de Bettas. Estos investigadores observaron y midieron varios componentes de la respuesta agresiva. Uno de estos, específicamente los giros en 90°, se vio reducido considerablemente con 3 hrs de exposición a una solución de fluoxetina de 3 µg/ml. En el presente estudio, los mismos componentes medidos por Lynn et al. (2007) fueron considerados para examinar los efectos de la kava y también se empleó la misma vía de administración (epitelial). La replicación del estudio de Lynn et al. (2007) se condujo con el propósito de ampliar el conocimiento acerca del mecanismo de acción de la kava y proveer una experiencia de laboratorio para estudiantes de pregrado, en cursos de Aprendizaje y Comportamiento y Psicología Fisiológica.

MÉTODO

Sujetos

Seis (6) peces Bettas, machos, sin experiencia experimental, fueron adquiridos a un proveedor local de mascotas. Cada uno de los peces fue colocado en un tanque con 3 litros de agua de clorinada (21-24 °C). Cada tanque estaba separado con paneles oscuros de Plexiglas para evitar el contacto visual entre los peces Bettas. La habitación experimental se mantuvo en un ciclo de iluminación de 12-hrs luz/oscuridad. Se les proveyó de alimento diariamente, después de las sesiones experimentales.

Aparato

Durante cada condición, los Bettas se transportaron del tanque donde habitaban (previamente descrito) a un tanque experimental de 38 litros, 30.5 cm de alto por 50.8 cm de largo y 26.7 cm de ancho, en el cual se condujeron las sesiones experimentales y las observaciones. Este tanque experimental se llenó con 28.5 litros de agua de clorinada y puede observarse su diagrama bajo este párrafo (Figura 1). Para observar la conducta agresiva de cada Betta, se colocó al final del tanque un espejo (C) de 30.48 cm por 30.48 cm, de modo que éste cubriese un lado completo del tanque. Todos los lados del tanque excepto el lado de observación del tanque se cubrieron con Plexiglas negro (A). También se utilizó un pedazo de Plexiglas negro para cubrir el espejo durante los intervalos en los que no debía reflejarse la imagen del Betta (B). El frente del tanque se dejó descubierto para observación y grabación de imágenes con una cámara web. Una marca exterior de 10 cm desde el espejo fue hecha para medir el comienzo de la conducta agresiva (D). Se grabó la conducta agresiva de los peces 3, 4, 5, y 6.

Cuando los Betta estuvieron bajo condiciones experimentales de observación, habitaron en sus tanques de 3 litros.

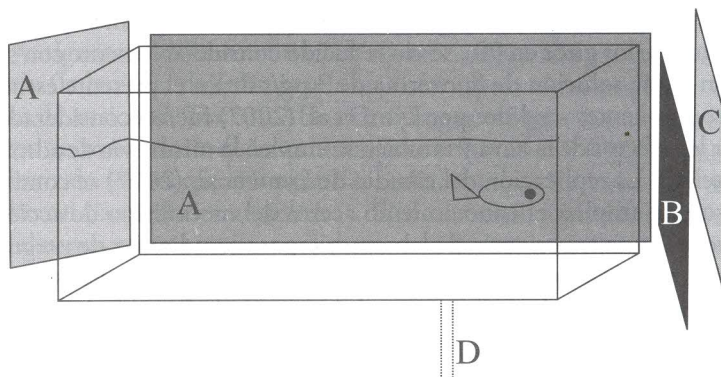


Figura 1. Diagrama del tanque experimental y otros materiales empleados durante la recolección de datos. Paneles de Plexiglás negro (A) para eliminar otros estímulos visuales, panel de Plexiglás negro para cubrir el espejo entre ensayos (B), espejo (C), y marca de 10 cm (D).

Procedimiento

Línea Base. Se replicaron el procedimiento y observaciones conductuales conducidas por Lynn et al. (2007). En el presente experimento cada Betta fue expuesto a 10 ensayos de línea base. Durante estos ensayos cada Betta se transportó del tanque donde habitaba al tanque experimental, y se dio a cada uno 15 min para habituarse a este tanque. Después de este período de habituación, el espejo se presentó (se removió el panel negro de Plexiglás) durante 5 min. Durante este período se registraron los siguientes componentes de la conducta agresiva: (1) latencia de la primera respuesta, medida por el acercamiento al espejo dentro de la marca de 10 cm ya descrita; (2) tiempo medido en segundos con opérculos en movimiento y branquias extendidas; (3) tiempo medido en segundos mientras el pez nada de costado (i.g., nado paralelo al lado del tanque adjunto al espejo con aletas erigidas); y (4) frecuencia de giros de 90°, medida por un movimiento rápido y asertivo de la cabeza hacia el espejo como si el ataque fuese directamente dirigido a un pez y luego al llegar próximo al espejo, el pez hace un movimiento (giro) hacia la derecha o izquierda que resulta en un ángulo de aproximadamente 90°. Estos componentes de conducta agresiva se registraron solo si ocurrían dentro de la marca de 10 cm. Cada ensayo fue definido como la exposición de 5 min al espejo. Cada sesión se compuso de dos ensayos, cada uno separado por un período de descanso de 5 min (se cubrió el

espejo y se dejó al pez en el tanque experimental). Al haber completado cinco de estas sesiones de línea base (10 ensayos) a cada Betta le fueron dados siete días de descanso, antes de volver a comenzar con las sesiones experimentales.

Administración de la kava

Se seleccionaron dos dosis de kava (5µg/ml y 10µg/ml) y dos duraciones de exposición a la kava (3 y 5 hrs). La kava molida se adquirió en una tienda local y se disolvió en agua destilada para preparar una solución de 1 mg/ml. A partir de esta solución, las dos dosis antes mencionadas se prepararon añadiéndole las cantidades de agua correspondientes a cada dosis. Cada pez fue inducido a la kava, vía administración epitelial (siguiendo a Lynn et al., 2007) que permite la absorción de la kava a través de las branquias. Se empleó un recipiente plástico transparente con 200-ml de la solución a fin de exponer a cada Betta. Después de introducir al pez dentro de este recipiente, éste se colocó dentro (flotando) del tanque experimental.

Después de una exposición de 3 hrs a 5 µg/ml de kava, el pez J1 se removió del recipiente con la solución de kava y se colocó en el tanque experimental. Los mismos pasos previamente descritos se siguieron a fin de registrar los componentes de conducta agresiva. El pez J1 completó dos sesiones y después de siete días de descanso fue expuesto a una solución de kava de 10 µg/ml por 5 hrs. El pez P2 fue expuesto solamente a la solución de kava de 10µg/ml. Después de ser expuestos a la kava, siete días de descanso y una sesión de línea base.

Los cuatro peces restantes se expusieron a condiciones similares. Cada uno de los Betta fue expuesto por 5 hrs en una solución de kava de 10µg/ml (condición experimental) y también a una condición (condición control) en la que fueron introducidos en el recipiente con agua declorinada. Esta variación del procedimiento, comparado con el de Lynn et al. (2007), con peces J1 y P2, se condujo con los cuatro peces a fin de asegurar que los efectos que se observasen fuesen debidos a la kava y no debidos, o parcialmente debidos, al proceso de administración. Después de establecer una línea base, los peces C3 y F4 fueron expuestos primero a la condición experimental, mientras que los peces 5 y 6 se expusieron, primero, a la condición control. Después de siete días, los peces C3 y F4 fueron expuestos a la condición control y peces SC5 y SP6 a la condición experimental. Al finalizar ambas condiciones, control y experimental, y después de siete días, cada Betta se expuso a la línea base, y después otros siete días cada pez se expuso una vez más a la kava con el fin de obtener respuestas intrasujeto.

Entrenamiento de alumnos

Este experimento fue conducido por cuatro alumnas de pregrado, y una de ellas trabajó en el análisis, manuscrito y presentación de resultados. Cada

alumna leyó el artículo escrito por Lynn et al. (2007) y fueron entrenadas en grupo, por el supervisor de laboratorio, en la recolección de datos. Previamente se grabaron ejemplos de conducta agresiva para adiestrar a las alumnas a observar, reconocer y registrar cada uno de los componentes de conducta agresiva. Dos alumnas observaron y registraron las conductas agresivas de cada pez. Una examinó las grabaciones para determinar acuerdos entre observadores. Otra alumna se encargó del mantenimiento general de los peces y asistió en la preparación del equipo empleado durante los experimentos.

RESULTADOS

Se condujeron cinco sesiones en la línea base (ver Tabla 1) para asegurar la consistencia de la conducta agresiva antes de examinar los efectos de la kava. La última sesión de línea base se seleccionó para hacer las comparaciones con las dosis de kava.

Tabla 1. Medias y desviaciones estándar (mostradas en paréntesis) para cada medida de la conducta agresiva para cada pez correspondientes a las cinco sesiones de línea base.

Pez	Latencia	Opérculos	Costado	Frecuencia Giros de 90
J1	11.1 (8.28)	288.6 (8.00)	188.2 (38.15)	17.4 (5.15)
P2	14.70 (11.50)	159.10 (69.80)	37.50 (24.30)	14.50 (4.38)

El primer grupo de comparaciones se hizo con los peces J1 y P2. Estos datos fueron parte de un proyecto de laboratorio de una de las alumnas que participó en este proyecto para el curso de pregrado de Aprendizaje y Comportamiento. En la Figura 2, bajo este párrafo, se muestran las medias para cada uno de los componentes de conducta agresiva medidos por Lynn et al. (2007). La medias se calcularon sobre la base de los dos ensayos que componen una sesión. En la parte izquierda de la figura se muestran las medias (y desviaciones estándar representadas por las líneas que se extienden de las barras) correspondientes a los giros de 90°.

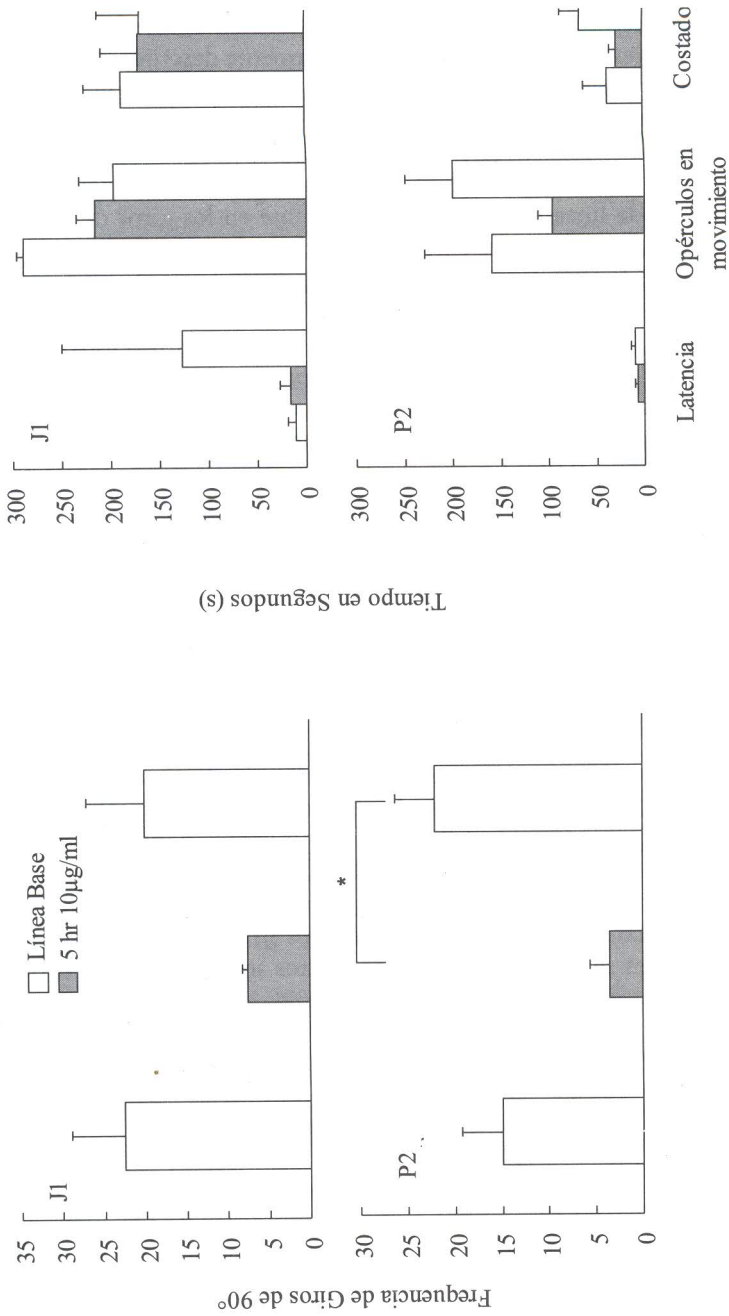


Figura 2. Media de la frecuencia de giros de 90° en la izquierda y media de latencia, opérculos en movimiento y costado en la derecha. Cada media se muestra para cada condición experimental y cada pez (las barras blancas representan las medias correspondientes a línea base, antes y después del tratamiento; y las barras grises representan las medias durante la exposición a la kava). El asterisco representa la diferencia estadísticamente significativa entre las medias delineadas.

En la parte derecha de la Figura 2 se muestran las medias correspondientes a los otros componentes de conducta agresiva previamente descritos. Las barras grises representan las medidas cuando los peces J1 y P2 fueron expuestos por 5 hrs a la kava. En general, los cambios más consistentes se observaron en los giros de 90°. Luego de la exposición a la kava, se recolectó otra línea base para confirmar los efectos de la kava, el retorno de la conducta a los niveles previamente observados en la línea base fue más consistente en los giros de 90°. Se condujeron diversas comparaciones entre medias de la frecuencia de giros de 90° empleando una prueba *t* de muestras pareadas. Para el pez J1 se comparó la media de la primera línea base ($M = 22.50$, $SD = 6.36$) con la media bajo los efectos de la kava ($M = 7.50$, $SD = 0.76$), $t(1) = 3.75$, $p = 0.166$ (dos colas). Seguidamente la media bajo los efectos de la kava previamente mencionada se comparó con la media del retorno a línea base ($M = 20.00$, $SD = 7.07$), $t(1) = -2.778$, $p = 0.22$. Para P2 se hicieron las mismas comparaciones ($t(1) = 7.67$, $p = 0.08$; $t(1) = -12.33$, $p = 0.05$). En conclusión, se observó una tendencia a la reducción de la frecuencia de los giros de 90° y en el caso de P2.

El resto de las medidas de la conducta agresiva no cambió consistentemente como los giros de 90°. El único caso en el que se observó una reducción con la kava y luego un retorno al nivel observado en la línea base fue en el pez P2 en los opérculos en movimiento, pero dicho patrón de cambio no se observó en el pez J1. Por esta razón, en el resto de los peces se focalizó en la frecuencia de los giros de 90°.

Los peces C3, F4, SC5, y SP6 se utilizaron para repetir y extender los resultados previamente descritos. Como es típico en procedimientos de administración de sustancias, para verificar que los efectos obtenidos no son debidos a la experiencia con la aguja (en caso de la vía de administración intraperitoneal) u otros aspectos (e.g., manipulación del animal) del proceso de administración empleado, se administra una sustancia inocua aparte de la droga/sustancia en cuestión; si dicha sustancia inocua genera resultados similares a los obtenidos en línea base, entonces se puede decir que los efectos son debidos a la droga/sustancia en cuestión.

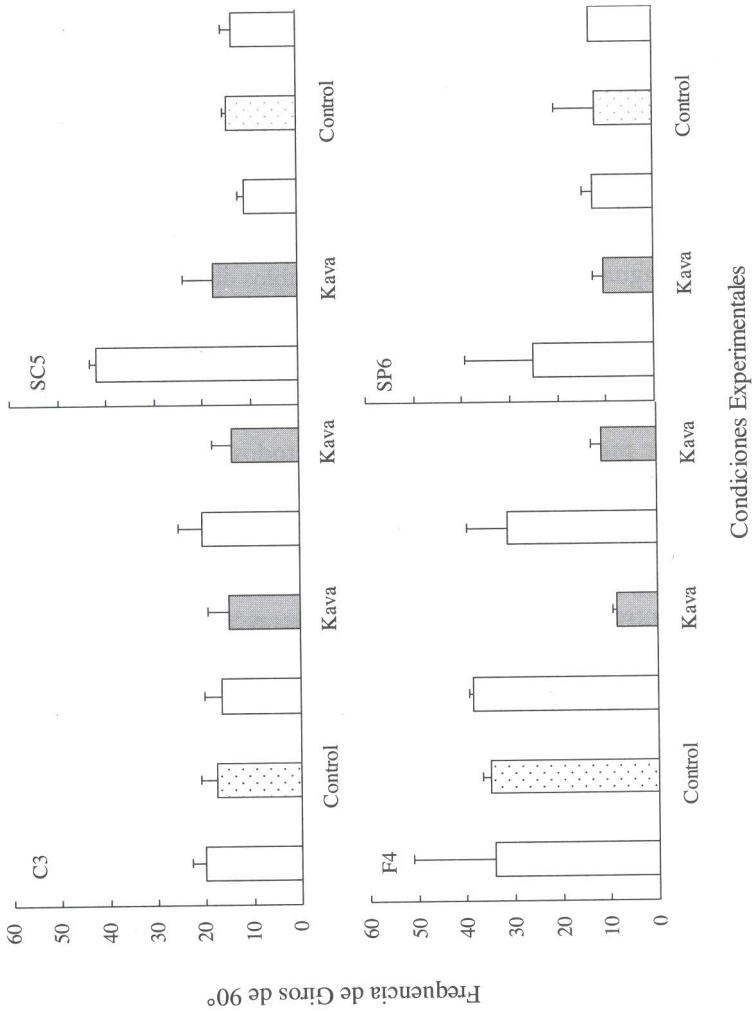


Figura 3. Media de la frecuencia de giros de 90° para cada condición experimental y cada pez. Las barras blancas representan conducta en la línea base, las barras con puntos durante la condición control (cuando los peces fueron expuestos al agua solamente) y las barras grises durante la exposición a la kava.

En la Figura 3 se muestran las medias (determinadas de la misma forma que en la Figura 2) basadas en los giros de 90°. Se varió el orden de las condiciones experimentales y en general, el efecto observado en los giros de 90° en los peces J1 y P2 se repitió en los peces C3, F4, SC5 y SP6. Aún cuando las comparaciones hechas a través de una prueba *t* (muestras pareadas, dos colas) no mostraron diferencias significativas, se observó una tendencia a la disminución de los giros de 90°. Este efecto se repitió, además, en cada sujeto durante la última condición experimental. La condición llamada control en la que cada pez fue expuesto al agua solamente, no produjo cambios de la misma magnitud cuando se comparan con los efectos producidos por la kava.

Esta misma medida retornó a los niveles observados durante la línea base y se redujo nuevamente durante una segunda exposición en los peces C3, F4, SC5 y SP6.

Finalmente se promediaron las medias para todos peces. En la Figura 4 se dan las medias calculadas entre sujetos para los giros de 90°. La exposición de 5 hrs a una solución de 10 µg/ml, redujo de manera significativa, $t(5) = 3.73$, $p < 0.05$ (dos colas) los giros de 90° durante la primera exposición en todos los peces cuando se comparan como grupo con respecto a la línea base.

El acuerdo entre observadores fue medido a través de un coeficiente de correlación Pearson, calculado entre las medidas recolectadas en vivo por dos alumnas y las medidas recolectadas por otra alumna (diferente a las otras dos previamente mencionadas) que observó las conductas de cada pez grabadas con la cámara web. El coeficiente de correlación se obtuvo con las frecuencia de giros de 90° con los peces C3, F4, SC5 y SP6 y resultó ser positivo y alto ($r = 0.96$) lo cual corresponde a un alto acuerdo entre observadores para esa medida.

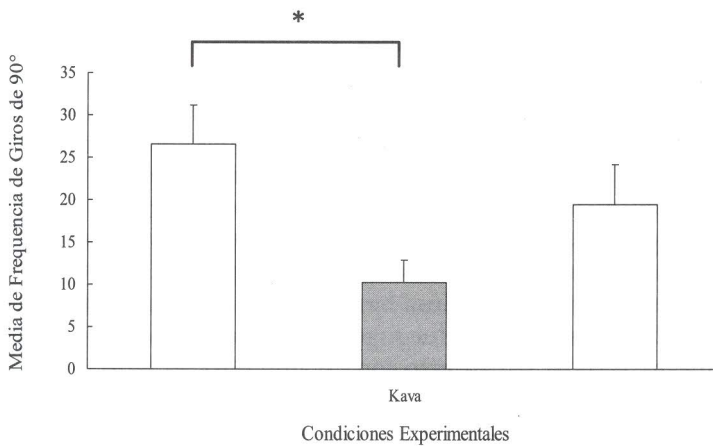


Figura 4. Media de frecuencia de giros de 90° calculada entre los seis peces para cada condición experimental. Las barras blancas representan conducta durante línea base y la barra gris representa la conducta durante la exposición a la kava. Las líneas que se extienden de cada barra representan las desviaciones estándar correspondientes. El asterisco representa la diferencia estadísticamente significativa entre las medias delineadas.

DISCUSIÓN

En general los giros de 90° fueron reducidos consistentemente entre los seis peces y las respuestas intrasujeto conducidas en C3, F4, SC5 y SP6 con la exposición por 5 hrs en una solución de kava de 10µg/ml. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Lynn et al. (2007) con fluoxetina. Más específicamente, en el estudio de Lynn et al. (2007), esta reducción de los giros de 90° se observó con dos concentraciones de fluoxetina (3 y 6 µg/ml) y con dos duraciones de exposición (3 y 5 hrs). En el presente proyecto solo los peces J1 y P2 se expusieron a una concentración de kava de 5 µg/ml (estos resultados no se mostraron en este manuscrito), pero al no observar cambios en la conducta agresiva en comparación a los niveles obtenidos durante la línea base, se incrementó la dosis y la duración de la concentración hasta que se encontraron efectivas la concentración y la duración (10 µg/ml y 5 hrs, respectivamente).

En cuanto a la medición de la conducta, las estudiantes involucradas en el proyecto hicieron varios ajustes relativos a la descripción de la conducta proveído por Lynn et al. (2007), por ejemplo, los giros de 90° fueron definidos

como giros asertivos hacia el espejo: estos ajustes contribuyeron a la precisión de la medida y registro de dicha conducta.

En cuanto a la metodología y análisis de datos, Lynn et al. (2007) emplearon un diseño entre sujetos, por lo tanto sus comparaciones se hicieron entre grupos. El diseño del proyecto presente fue más acorde con uno intrasujeto, por lo tanto las comparaciones se hicieron principalmente intrasujeto y también se hizo una comparación entre sujetos cuando se compilaron las medidas entre peces (ver Figura 4). El diseño intrasujeto permitió comprobar que el efecto se observó más de una vez en cada Betta (en los peces C3, F4, SC5 y SP6), adicionalmente el retorno a la línea base se demostró en este proyecto y no en Lynn et al. (2007), aun cuando fue sugerido por dichos autores en un punto de discusión generado por su proyecto con los alumnos.

Antes de administrar la kava, se recolectó más de una sesión de línea base para asegurar que dicha conducta se mantuviese a un nivel relativamente constante. Además, la condición control fue incluida para asegurar que los efectos observados fuesen debidos a la kava y no al método de administración. Dicha adición al diseño de este proyecto fue realizada directamente por las alumnas involucradas en el proyecto, lo cual comprobó que la experiencia de laboratorio fue efectiva en la aplicación del conocimiento adquirido en los cursos de Metodología de Investigación.

El acuerdo entre observadores, comúnmente empleado en estudios psicológicos de observación de la conducta también fue integrado en este proyecto. Esta medida no fue empleada por Lynn et al. (2007) y sirvió para ilustrar otro componente importante en la metodología de investigación.

La administración epitelial, de acuerdo a Lynn et al. (2007), permite la entrada de sustancias presumiblemente a través de las branquias. Este tipo de administración epitelial en peces es preferible a otro tipo como las inyecciones (previamente utilizada por Lynn et al. 2007), ya que reduce la posibilidad de infección y elimina la manipulación del animal mientras se inyecta. Adicionalmente, la administración epitelial es más fácil de enseñar a los alumnos y por lo tanto la hace un método preferible en el contexto de una práctica de laboratorio para alumnos de pregrado.

La preparación experimental empleada en el presente estudio para medir la conducta agresiva puede compararse con otros procedimientos para el estudio de la ansiedad, como por ejemplo el laberinto en cruz elevado (Garrett et al., 2003; Rex et al., 2002). El resultado comúnmente obtenido en el laberinto en cruz elevado, usado como indicador de un efecto ansiolítico, es que el tiempo que pasan los roedores en las ramas abiertas es más largo que cuando los roedores no han recibido la sustancia ansiolítica. Quizá la reducción de los giros de 90° pueda considerarse un indicador de un efecto ansiolítico ya que se observó con

kava y fluoxetina. Otros componentes ansiolíticos deben ser examinados en la conducta agresiva de Bettas para apoyar esta posibilidad.

Este proyecto contribuyó también con la generación de conocimiento adicional acerca del mecanismo de acción de la kava. A nivel fisiológico, es posible que los componentes de la conducta agresiva medidos en este estudio, estén regulados por mecanismos y receptores distintos, ya que los giros de 90° fueron consistentemente reducidos y no otros componentes de la conducta agresiva. Puede plantearse entonces la pregunta de si la kava genera efectos ansiolíticos o sedativos (cf. Bruner y Anderson, 2009). Mientras la frecuencia de giros de 90° disminuyó consistentemente, otros componentes de la conducta agresiva (e.g., latencia de la primera respuesta) no sufrieron cambios consistentes. Puede decirse entonces que el nivel de actividad general se mantuvo, lo cual no corresponde con efectos sedativos. Se observó una reducción en parte de la conducta agresiva, pero no en actividad general.

Los resultados en cuanto a los giros de 90° fueron similares a los obtenidos por Lynn et al. (2007) quienes usaron fluoxetina. Puede plantearse que quizá la kava y este inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina comparten parte del mismo mecanismo de acción. Esto se asemeja también a las conclusiones presentadas por Bruner y Anderson (2009) entre la kava y el CDP; en dicho estudio la kava sustituyó parcialmente al CDP (este siendo más potente). En los resultados del presente estudio, los resultados sugieren que la kava no es tan potente como el fluoxetina en Lynn et al., ya que solo disminuyó un componente de la conducta agresiva y las diferencias no fueron significativas en la mayoría de los casos individuales. El hecho de que aún se observó una tendencia general y un cambio significativo cuando los resultados se promediaron entre peces sugiere que más investigación es necesaria para descifrar el mecanismo de acción de la kava. Debe decirse que los resultados obtenidos en el presente proyecto apoyan el uso y efectividad de la kava en humanos como ansiolítico (Gastpar y Klimm, 2003; Volz y Keiser, 1997; Wheatly, 2001).

Las similitudes en parte de los efectos en la conducta agresiva de los Bettas producidos por la kava y la fluoxetina también sugieren que la kava quizá afecta la regulación de la serotonina. Dicho neurotransmisor, como se comentó en la introducción, ha sido vinculado con la conducta agresiva, específicamente bajos niveles de serotonina se han hallado consistentemente en casos de conductas agresivas en animales y humanos (Seo et al., 2008). Quizá la kava contribuye en el incremento de la serotonina a nivel sináptico, reduciendo parte de la conducta agresiva en Bettas.

Los resultados del presente estudio parcialmente apoyan la idea de la kava como alternativa a las benzodiazepinas. Dicha alternativa se ha referido en varios ámbitos como *mejor* o *natural*, lo cual debe considerarse cuidadosamente

y no tomarse directamente como una ventaja. Existe evidencia parcial de efectos distintos entre las benzodiazepinas y la kava, y debe remarcarse, al mismo tiempo, que existe evidencia que el uso de la kava a largo plazo produce efectos dañinos (Bilia, Gallon y Vincieri, 2002). Esta mezcla de evidencia ratifica la necesidad de conducir más experimentos que contribuyan a descifrar el mecanismo de acción y los efectos secundarios, no solo de la kava sino igualmente de otros suplementos herbales comúnmente utilizados en varias culturas y muchas veces considerados por el público como *mejores* que productos farmacológicos.

Aun cuando no se llegaron a conclusiones definitivas en cuanto al mecanismo de acción, a través del presente proyecto se generaron varias preguntas y posibilidades para ampliar dicho estudio. Otros experimentos que involucren metodología operante (cf. Bruner y Anderson, 2009; Elcoro et al., 2008) pueden contribuir al entendimiento del mecanismo de acción de la kava y de las bases fisiológicas de la conducta agresiva. Este proyecto sirvió para mostrar, a estudiantes de pregrado en Psicología, la importancia de la integración entre disciplinas, específicamente la fisiología y la psicología a nivel metodológico, analítico y conceptual. En cuanto al valor aplicado de este estudio, se intentó promover el pensamiento crítico en cuanto al uso de suplementos naturales y componentes farmacológicos en el tratamiento de enfermedades y trastornos mentales. También se demostró la importancia del uso de animales y procedimientos de laboratorio como modelos para comprender aspectos importantes en psicopatológica.

AGRADECIMIENTOS Y NOTA

A Melissa Ballard, Ivy Patton y Shelby Parsons, estudiantes de pregrado en Psicología en AASU por colaborar en la recolección de datos. Al Departamento de Psicología de AASU, al Research and Scholarship Grant proveído por AASU y The National Science Foundation-STEP Program (Verano 2009) por proveer apoyo en este proyecto. Los resultados en este manuscrito fueron previamente presentados por Jenna Eagle en una conferencia, Carolinas Psychology Conference, para alumnos de pregrado, en abril de 2010, en Raleigh, Carolina del Norte, EE.UU.

REFERENCIAS

- Bilia, A. R., Gallon, S., & Vincieri, F. F. (2002). Kava-kava and anxiety: growing knowledge about the efficacy and safety. *Life Sciences*, 70, 2581-2597.

- Bilia, A. R., Scalise, L., Bergonzi, M. C., & Vincieri, F. F. (2004). Analysis of kavalactones from *Piper methysticum* (kava-kava). *Journal of Chromatography B*, 812, 203-214.
- Bilia, A. R., Scalise, L., Bergonzi, M. C., & Vincieri, F. (2008). Effect of surfactants and solutes (glucose and NaCl) on solubility of kavain- a technical note. *AAPS Pharmacology, Science and Technology*, 9, 444-448.
- Bronstein, P. M. (1983). Onset of combat in male *Betta splendens*. *Journal of Comparative Psychology*, 97, 135-139.
- Bruner, N. R., & Anderson, K. G. (2009). Discriminative-stimulus and time-course effects of kava-kava (*Piper methysticum*) in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 92, 297-303.
- Galizio, M. Woodard, R. L. y Keith, J. (1985). Effects of ethanol and naltrexone on aggressive display in the Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Alcohol*, 2, 637-640.
- Garrett, K. M., Basmadjian, G., Khan, I. A., Schaneberg, B. T., y Seale, T. W. (2003). Extracts of kava (*Piper methysticum*) induce acute anxiolytic-like behavioral changes in mice. *Psychopharmacology*, 170, 33-41.
- Gastpar, M. y Klimm, H. D. (2003). Treatment of anxiety, tension and restlessness states with kava special extract WS 1490 in general practice: a randomized placebo-controlled double-blind multicenter trial. *Phytomedicine*, 10, 631-639.
- Elcoro, M., Da Silva, S. P., y Lattal, K. A. (2008). Visual reinforcement in the female siamese fighting fish, *Betta splendens*, 90, 53-60.
- Lehrl, S. (2004). Clinical efficacy of kava extract WS® 1490 in sleep disturbances associated with anxiety disorders. Results of a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Journal of Affective Disorders*, 78, 101-110.
- Lynn E. S., Egar, J. M., Walker, B. G., Sperry T. S., & Ramenofsky, M. (2007). Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*, 31, 358-363.
- Near, J.A., & Martin, B. J. (2007). Expanding course goals beyond disciplinary boundaries: physiology education in an undergraduate course on psychoactive drugs. *Advances in Physiological Education*, 31, 1616-166.
- Nevels, R. M., Dehon, E. E., Alexander, K. y Gontkovsky, S. T. (2010). Psychopharmacology of aggression in children and adolescents with primary neuropsychiatric disorders: a review of current and potentially promising treatment options. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 18, 184-201.

- Raduege, K. M., Kleshinski, J. F., Ryckman, J. V., y Tezlaff, J. E. (2004). Anesthetic considerations of the herbal, kava. *Journal of Clinical Anesthesia*, 16, 305-311.
- Rex, A., Morgenstern, E. y Fink, H. (2002). Anxiolytic-like effects of kava-kava in the elevated-plus maze test- a comparison with diazepam. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 26, 855-860.
- Seo, D., Patrick, C. J., y Kennealy, P. J. (2008). Role of serotonin and-dopamine system interactions in the neurobiology of impulsive aggression and its comorbidity with other clinical disorders. *Aggression and Violent Behavior*, 13, 383-395.
- Sullivan, J., Romm, J. & Reilly, M. (2009). A brief report of student research: mechanism of analgesic effect and efficacy and anesthesia interactions of kava in the male Sprague-Dawley rat. *Dimensions of Critical care Nursing*, 28, 138-140.
- Thompson, R., Ruch, W., & Hasenöhrl, R. U. (2004). Enhanced cognitive performance and cheerful mood by standardized extracts of *Piper methysticum* (Kava-kava). *Human Psychopharmacology*, 19, 243-250.
- Toubas, P. L., Abla, K. A., Cao, W., Logan, L. G., y Seale, T. W. (1990). Latency to enter a mirrored chamber: a novel behavioral assay for anxiolytic agents. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 35, 121-126.
- Wargovich, M. J., Woods, C., Hollis M. D., & Zander, M. E. (2001). Herbs, cancer prevention and health. *The Journal of Nutrition*.3034S-3036S.
- Wheatly, D. (2001). Stress-induced insomnia treated with kava and valerian: singly an din combination. *Human Psychopharmacology*, 16, 353-356.
- Wirth, O., Lattal, K. A., y Hopko, S. (2003). Using visual reinforcement to establish stimulus control of responding in Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Journal of Comparative Psychology*, 117, 111-118.